

Wolfgang Lenz

UNTERSUCHUNGEN ÜBER DIE WIRKUNG
EINIGER CYTOSTATICA UND VERSCHIEDENER
ANDERER STOFFE AUF DIE ANAEROBE
GLYKOLYSE VON MALIGNEM HUMANEN
GEWEBE IN VITRO

1963
Frankfurt am Main 1962



Digitized by the Internet Archive
in 2026

Untersuchungen über die Wirkung einiger Cytostatica
und verschiedener anderer Stoffe auf die anaerobe
Glykolyse von malignem humanen Gewebe in vitro.

Inaugural - Dissertation
zur Erlangung des Doktorgrades
der Naturwissenschaftlichen Fakultät
der
Johann Wolfgang Goethe - Universität
Frankfurt am Main

vorgelegt von
Wolfgang Lenz
Frankfurt am Main
1962

Gedruckt mit Genehmigung
der Naturwissenschaftlichen Fakultät
der
Johann Wolfgang Goethe-Universität
Frankfurt am Main

1. Gutachter: Professor Dr. C. Rohmann
2. Gutachter: Professor Dr. G. Pfeleiderer

Tag der mündlichen Prüfung: 23. Juli 1963
Tag der Promotion: 29. Juli 1963

Inhaltsübersicht

	Seite
1 <u>Einleitung</u>	4
2 <u>Allgemeiner Teil</u>	6
2.1 Geschichte und Theorien, Definition, Wesen, Einteilung; Theorie Warburgs und Aufklärung der Glykolyse	6
3 <u>Allgemeiner Versuchsteil</u>	20
3.1 Untersuchungsverfahren	20
3.2 Zusammenstellung der untersuchten Wirkstoffe	22
3.2.1 Zusammenstellung der untersuchten Krebsgewebe	33
3.3 Versuchsergebnisse	33
4 <u>Experimenteller Teil</u>	62
4.1 Die manometrische Bestimmung	62
5 <u>Zusammenfassung</u>	77
6 <u>Literaturverzeichnis</u>	79

1 Einleitung

Schon verschiedentlich wurde darauf hingewiesen, daß Untersuchungen, die mit Cytostatica an Mäusen vorgenommen wurden, nicht immer mit den therapeutischen Ergebnissen beim Menschen verglichen werden können, da sich die menschlichen Tumoren von denen der Maus unterscheiden (1). Es wurde ferner gezeigt, daß durch die cytostatische Wirkung eines Stoffes auf Zellkulturen, die bereits verschiedene Passagen durchlaufen haben, oder auf künstlich erzeugte Tier-tumoren (Impftumoren) nicht immer auch Rückschlüsse auf eine gleiche Wirkung an malignen menschlichen Zellen gezogen werden können (2). Nach der Auffassung von O. W a r - b u r g (3) wird die Grundlage der Therapie des Krebses wohl auf der Hemmung der Glykolyse, beziehungsweise auf einer Steigerung der Atmung der bis dahin malignen Zellen beruhen müssen. Diese Erkenntnisse gaben den Anlaß, verschiedene in den letzten Jahren entwickelte Cytostatica und einige andere Stoffe in Bezug auf ihre Wirkung gegenüber der anaeroben Glykolyse maligner menschlicher Zellen zu untersuchen.

	Seite
2 Allgemeiner Teil	6
2.1 Geschichte und Theorien, Definition, Wesen, Einteilung; Theorie Warburgs und Aufklärung der Glykolyse	6
2.1.1 Kurzer Überblick über die Geschichte und einige alte Theorien	6
2.1.2 Definition, Einteilung und Wesen der Geschwülste	7
2.1.3 Warburgs Theorie zur Entstehung des Krebses	10
2.1.4 Aufklärung des Mechanismus der Glykolyse	12

2 Allgemeiner Teil

2.1 Geschichte und Theorien, Definition, Wesen, Einteilung, Theorie Warburgs und Aufklärung der Glykolyse.

2.1.1 Kurzer Überblick über die Geschichte und einige alte Theorien.

Krebs ist wahrscheinlich schon so alt wie der Mensch selbst und ebenso alt sind auch wahrscheinlich die Versuche diese Krankheit zu bekämpfen. In dem ältesten überlieferten Buch über altägyptische Heilkunde, in dem Papyrus Ebers' (1500 v.Chr.) wird der Krebs schon erwähnt und einige Mittel dagegen aufgezählt.

Hippokrates (460-375 v.Chr.) führte die Krebsentstehung auf eine fehlerhafte Mischung der vier Körpersäfte, helle Galle, dunkle Galle, Schleim und Blut, zurück und berichtet über die Heilung eines Rachenkrebses durch das Glüheisen. Galen (129-199 n.Chr.), der als griechischer Arzt in Rom wirkte, führte die Geschwulstentstehung auf eine Stauung eingedickter schwarzer Galle zurück; Paracelsus hingegen sah die Gewebeentartung durch einen Überschuß an Mineralsalzen im Blut bedingt.

Schon früh wurden also verschiedene Theorien aufgestellt, die das Krebsproblem lösen sollten; die moderne Krebsforschung beginnt aber eigentlich erst mit V i r c h o w, der in seiner "Reiztheorie" erklärte, daß langandauernde Reize an bestimmten Stellen des

Gewebes Veränderungen hervorrufen, die schließlich zu Krebs führen könnten. Genauere Erkenntnisse konnten aber erst durch die systematische und exakte Forschung der letzten Jahrzehnte gewonnen werden.

2.1.2 Definition, Einteilung und Wesen der Geschwülste

Die Entstehung des Krebses beruht auf dem plötzlichen Auftreten zwar körpereigener aber andersgesetzlich und naturwidrig wachsender Zellen, die die Fähigkeit und Tendenz haben, durch schrankenloses Wachstum und rasche Vermehrung bis dahin noch normales Gewebe zu zerstören. Krebs kann nicht nur bei Pflanzen und Tieren, sondern besonders auch beim Menschen in allen Organen und Geweben auftreten. Im allgemeinen werden die Geschwülste, seien sie nun maligne oder benigne, als Neoplasmen, Blastome oder Tumore bezeichnet.

W a l d e y e r teilte die große Gruppe der Krebsgeschwülste in zwei Klassen ein, und zwar in Carcinome und Sarkome.

Als Carcinome bezeichnet man alle malignen Tumore, die von epithelialen Organen und Geweben ausgehen, Sarkome sind diejenigen malignen Geschwülste, die sich aus Stütz-, Binde- oder Füllselgewebe entwickelt haben. Im Einzelnen erfolgt die Benennung bei den Carcinomen nach dem Muttergewebe, dem Differenzierungsgrad und dem Organ, dem sie entstammen, bei Sarkomen nach den einzelnen Organen, von denen sie ausgehen.

Das Wesen der malignen Tumore ist vor allem durch ihre starke Wucherungs- und damit verbundene Zerstörungsfähigkeit ausgezeichnet. Die Ausbreitung im Organismus erfolgt nicht nur durch Einwuchern in die Umgebung des befallenen Organs, sondern auch durch Metastasierung, wobei maligne Zellen des Primärtumors an eine andere Stelle des Organismus, hauptsächlich in der Lymph- oder Blutbahn (lymphogene Metastasierung - haematogene Metastasierung) verschleppt werden, sich dort ansiedeln und vermehren. Krebs kann sowohl durch exogene als auch endogene Schädigung des Gewebes hervorgerufen werden und ist primär als eine rein lokale Erkrankung zu betrachten; auch in rein morphologischer Beziehung ist diese Erkrankung zunächst ein primär unizellulärer Vorgang. Die Entstehung von Tumoren ist also stets eine Folge örtlicher Schädigungen einer oder mehrerer Noxen.

H a d d o w (4) betrachtet die Entstehung der Carcinome als ein reines Zellproblem, bei dem der übrige Organismus als völlig unwesentlich anzusehen sei.

K.H. B a u e r (5) faßt den Krebs nicht als eine plötzliche Erkrankung auf, sondern sieht seine Entstehung durch eine Syncarcinogenese bedingt, das heißt einer Kette von mehreren sich folgenden, immer wieder neu die Zelle schädigenden und krebsbegünstigenden Faktoren.

Eines der Hauptprobleme der Krebsforschung war die Frage nach dem Unterschied zwischen der hochdifferen-

zierten normalen Körperzelle und den undifferenziert wachsenden malignen Zellen.

Es lag also nahe, die zum Wachstum der Zellen notwendigen energieliefernden Reaktionen, den Stoffwechsel zu untersuchen. Die ersten Arbeiten in dieser Richtung wurden im Jahre 1909 von N e u b e r g (6) und B l u m e n t h a l (7) über den Fermentstoffwechsel der Tumoren durchgeführt. Eine im Jahre 1920 von O. W a r b u r g (8) ausgearbeitete Untersuchungsmethodik zur manometrischen Bestimmung des Atmungs- und Spaltungsstoffwechsels lebender Zellen, einschließlich explantierter Krebszellen, gab genaueren Einblick in den Stoffwechsel maligner Gewebe. O. W a r b u r g und Mitarb. (9) stellten fest, daß Krebszellen im Zellstoffwechsel die Kohlehydrate in abnormer Weise verwerten.

Alle normalen Zellen haben bei ihrem energieliefernden Verbrennungsprozeß einen hohen Sauerstoffverbrauch und erhalten ihre Leistung durch die bei den Oxydationsvorgängen freiwerdenden Energien. O. W a r b u r g (10) hat nun gezeigt, daß Krebszellen auch bei vorhandenem Sauerstoff ihre Wachstumsenergie durch Spaltung von Glucose zu Milchsäure gewinnen, daß sie also im Stande sind, auch bei völligem Abschluß von Sauerstoff anaerob durch Glykolyse ihren Energiebedarf zu decken und zu leben. In späteren Arbeiten konnten O. W a r b u r g und Mitarb. (11) durch Bestimmung der Milchsäure in

den zu- und abführenden Gefäßen von Krebsgeschwülsten beweisen, daß die Tumorzelle auch im Körper selbst gärt.

21.3 W a r b u r g s Theorie zur Entstehung der Krebszellen.

Diese Entdeckungen machte nun O. W a r b u r g zugleich zum Ausgangspunkt einer neuen Krebstheorie; er sieht in der Glykolyse als Quelle des energieliefernden Kohlehydratstoffwechsels zugleich das Wesen des autonomen und destruierenden Wachstums. Die Umwandlung zur malignen Zelle kann durch verschiedene exogene oder endogene Faktoren bedingt sein und besteht primär in einer irreversiblen Schädigung der Atmung, die über alle folgenden Zellteilungen hinaus bestehen bleibt. Damit sind allerdings noch keine Krebszellen entstanden, denn nach O. W a r b u r g (12) muß mit dieser irreversiblen Schädigung der Atmung gleichzeitig ein Anstieg der Gärung einhergehen, und zwar in dem Maß, daß der Ausfall der Atmung energetisch kompensiert wird. Diese Steigerung der Gärung erstreckt sich immer über einen längeren Zeitraum und bedarf vieler Zellteilungen. Warburg erklärt damit auch die lange Latenzzeit der Krebsentstehung; er sieht darin nichts anderes als den Zeitraum zwischen Schädigung der Atmung bis zum Anstieg der Gärung und unterscheidet bei dem Vorgang der Carcinogenese zwei Phasen. Die erste Phase ist die irreversible Schädigung der Atmung, auf die als zweite Phase der Krebsentstehung der Anstieg der Gärung folgt. R o u s und

K i d d (13) sowie auch R u s c h und K l i n e (14) unterscheiden bei der Geschwulstbildung ebenfalls zwei Phasen, eine Initial- und eine Entwicklungsphase, wobei in der ersteren schon die Umwandlung zur Krebszelle erfolgt; diese wachsen aber nicht gleich zu einem Tumor heran, sondern verbleiben in einem Ruhezustand (schlafende oder latente Tumorzellen) und entwickeln sich erst bei gegebenen Vorbedingungen zu einer Geschwulst.

Während es O. W a r b u r g (15) für möglich hält, das Wachstum der Tumore im Körper zu hemmen, wenn es gelänge die Glykolyse zu unterdrücken und die reduzierte Atmung wieder zu steigern, sieht E. B o y l a n d (16) keinerlei Beziehung zwischen Atmung und Glykolyse einerseits und Geschwindigkeit des Tumorstwachstums andererseits. Demgegenüber steht die Auffassung von H. H o l z e r (17) und Mitarb., die gerade darin eine Möglichkeit sehen, auf der Grundlage der von vielen anderen (18,19) bestätigten Befunde O. W a r b u r g s, durch Hemmung der Glykolyse das Wachstum der malignen Zellen zu beeinflussen. L e t t r é (20) hingegen sieht die Bösartigkeit nicht in einer Atmungsschädigung der Zelle und der damit verbundenen Erhöhung der Glykolyse, sondern in einem ungehemmten Abbau der Glucose. Er verweist auch auf die Arbeiten von R u e c k e r t und M ü l l e r (21), die Zellen eines menschlichen Cervixcarcinoms in zum Teil bekannten Medien züchteten. Wurde dabei die Glucose der Nährlösungen durch Galactose ersetzt, so

find ebenso gutes Wachstum statt, ohne daß Glykolyse festgestellt werden konnte.

2.1.4 Aufklärung des Mechanismus der Glykolyse

Normalerweise werden die Kohlehydrate im Organismus vollständig zu CO_2 und Wasser veratmet; sie können aber auch zur Milchsäure abgebaut werden, ein Vorgang, der als Glykolyse bezeichnet wird. Diese Abbaureaktion verläuft bis zu einem gewissen Grad analog der alkoholischen Gärung bei Hefe. Die meisten normalen Gewebe bilden bei genügender Sauerstoffversorgung keine Milchsäure, das heißt, es ist wohl eine Gärung vorhanden, die aber durch die Atmung weitgehendst unterdrückt wird. Dieser Zusammenhang von Atmung und Gärung wurde erstmals von Pasteur an der Hefe beobachtet und wird als Pasteur-Effekt bezeichnet.

In seinen klassischen Arbeiten über den Stoffwechsel der Tumoren fand O. W a r b u r g (22), daß alle malignen Gewebe eine hohe aerobe als auch anaerobe Glykolyse zeigen und folgert daraus, daß es keinen Krebs geben würde, wenn die Gärung normaler Körperzellen nicht vorhanden wäre. Er sieht allerdings keinen Zusammenhang zwischen der Gärung der Körperzellen und dem normalen Wachstum (23).

Beim Abbau der Kohlehydrate sind zu unterscheiden:

- a) der oxydative Abbau, der zu Kohlendioxyd und Wasser führt,
- b) die alkoholische Gärung und

- c) der partielle Zerfall, der zur Milchsäure führt
und als Glykolyse bezeichnet wird, also schematisch:



Diese Gleichung ist der summarische Ausdruck einer Reihe
höchst komplizierter Reaktionsfolgen.

Es wurde schon 1877 von B e r n a r d (24) klar ausgesprochen, daß dieser Vorgang eine Art Milchsäuregärung des Glykogens beziehungsweise der Glucose ist. Aber erst Neuberg stellte im Jahre 1912 ein Gärungsschema auf, das den damals bekannten Tatsachen Rechnung trug. Bei der weiteren Aufklärung des Gärungsmechanismus waren vor allem die Arbeiten von H. von Euler, A. Harden, K. Lohmann, G. Embden, E. Lundsgaard, O. Meyerhof, R. Nilsson, K. Parnass und O. Warburg von entscheidender Bedeutung. Auch die Isolierung verschiedener Gärenzyme, zum Teil in kristalliner Form durch O. W a r b u r g und Mitarb. (25) war für die weitere Forschung von großer Wichtigkeit.

Die Untersuchungen, die zur Aufklärung des Glykolyseablaufs geführt haben, wurden hauptsächlich an Muskelpräparaten durchgeführt und es besteht kein Zweifel, daß dieser Vorgang in anderen Organen der gleiche ist. Da man schon früh erkannt hatte, daß die Vergärung von Glucose durch Hefepreßsaft mit der Glykolyse von Glykogen durch Muskel-extrakt in engem Zusammenhang steht, konnten sich beide Forschungsrichtungen ergänzen (26).

Zu den bedeutendsten Forschungsergebnissen gehören (27):

1. Die Entdeckung von Harden und seiner Schule, daß die Phosphorsäure durch Bildung von Zuckerphosphatesterne eine aktive Funktion hat. Die außerordentlich wichtige Rolle der sogenannten energiereichen Phosphorsäureverbindungen wurde erst später durch Arbeiten von F.

L i p m a n n (28) und H.M. K a l c k a r (29) aufgeklärt.

2. Die Entdeckung der sogenannten Cozymase durch A. H a r d e n und W. Y o u n g (30) und ihre Konstitutionsaufklärung durch H. v. E u l e r (31); besonders auch die Entdeckung des Nicotinsäureamids, der reagierenden Gruppe der Cozymase und Aufklärung seiner Funktion im Stoffwechsel durch O. W a r b u r g und W. C h r i s t i a n (32).

3. Die Bedeutung der Brenztraubensäure und deren zentrale Stellung im Stoffwechsel durch C. N e u b e r g (33).

Heute ist die Folge der komplizierten Teilreaktionen beim Ablauf der Glykolyse und deren Steuerung durch verschiedene Enzymsysteme und Aktivatoren weitgehend aufgeklärt.

Nach den heutigen Kenntnissen verläuft die anaerobe Zuckerspaltung folgendermaßen:

Die phosphorylierte Hexose zerfällt in zwei Moleküle Triosephosphat, das zunächst zu Diphosphoglycerinsäure

oxydiert und schließlich durch Dephosphorylierung in Brenztraubensäure übergeführt wird; anschließend erfolgt Reduktion zu Milchsäure.

Ein Schema, das den genauen Ablauf der Glykolyse zeigt, ist auf Seite 18 wiedergegeben; die einzelnen Reaktionsstufen sind mit römischen Zahlen markiert, die bei der Besprechung im Text ebenfalls die entsprechenden Reaktionen kennzeichnen. Die dort in Klammer gesetzten arabischen Zahlen entsprechen jeweils der Anzahl umgesetzter Moleküle.

PHOSPHORYLIERUNG DER GLUCOSE (I - III)

In der ersten Stufe des Glykolyseablaufs wird Glucose unter der katalytischen Wirkung von Hexokinase zu D-Glucose-6-phosphat verestert (Robinson-Ester) (34,35) (Reaktion I), wobei Adenosintriphosphat (ATP) unter Übergang in Adenosindiphosphat (ADP) die notwendige Phosphorsäure und Energie liefert. Die Phosphorylierungen verlaufen nur in Gegenwart von Mg-Ionen (36). Der gebildete Glucoseester wird nun in umkehrbarer Reaktion bis zu einem Gleichgewichtszustand unter der enzymatischen Wirkung von Phosphohexose-isomerase (37) in Fructose-6-phosphat (Neuberg-Ester) umgewandelt (Reaktion II). Nun reagiert der gebildete Monoester nochmals mit Adenosintriphosphat als Phosphatdonator, es entsteht Fructose-1,6-diphosphat (Harden-Young-Ester); das Enzym, das diese Reaktion katalysiert, ist Phosphofructokinase (Reaktion III).

SPALTUNG DER HEXOSEKETTE (IV - V)

Nun setzt der Zerfall der C_6 -Kette in zwei C_3 -Spaltstücke ein; katalysiert wird dieser Vorgang durch das Ferment Aldolase und es bildet sich ein Gleichgewichtsgemisch von 3-Phosphoglycerinaldehyd und Phosphodioxyaceton (38) (Reaktion IV). Beide können durch Phosphotrioseisomerase ineinander übergeführt werden (39) (Reaktion V). 3-Phosphoglycerinaldehyd ist der Ausgangskörper für den weiteren Reaktionsablauf.

DIE OXYDATION VON PHOSPHOGLYCERINALDEHYD (VI - VIII)

Phosphoglycerinaldehyd wird nun unter dem Einfluß von Triosephosphatdehydrase und der Mitwirkung von Coenzym I (Co I = Diphospho-pyridin-nucleotid = DPN) unter Aufnahme von anorganischem Phosphat zu 1,3-Diphosphoglycerinsäure (Negelein-Ester) dehydriert; gleichzeitig wird dabei Co I zu Co I.2H reduziert (40,41) (Reaktion VI). Unter der katalytischen Wirkung von Phosphoglycerinsäurekinase.

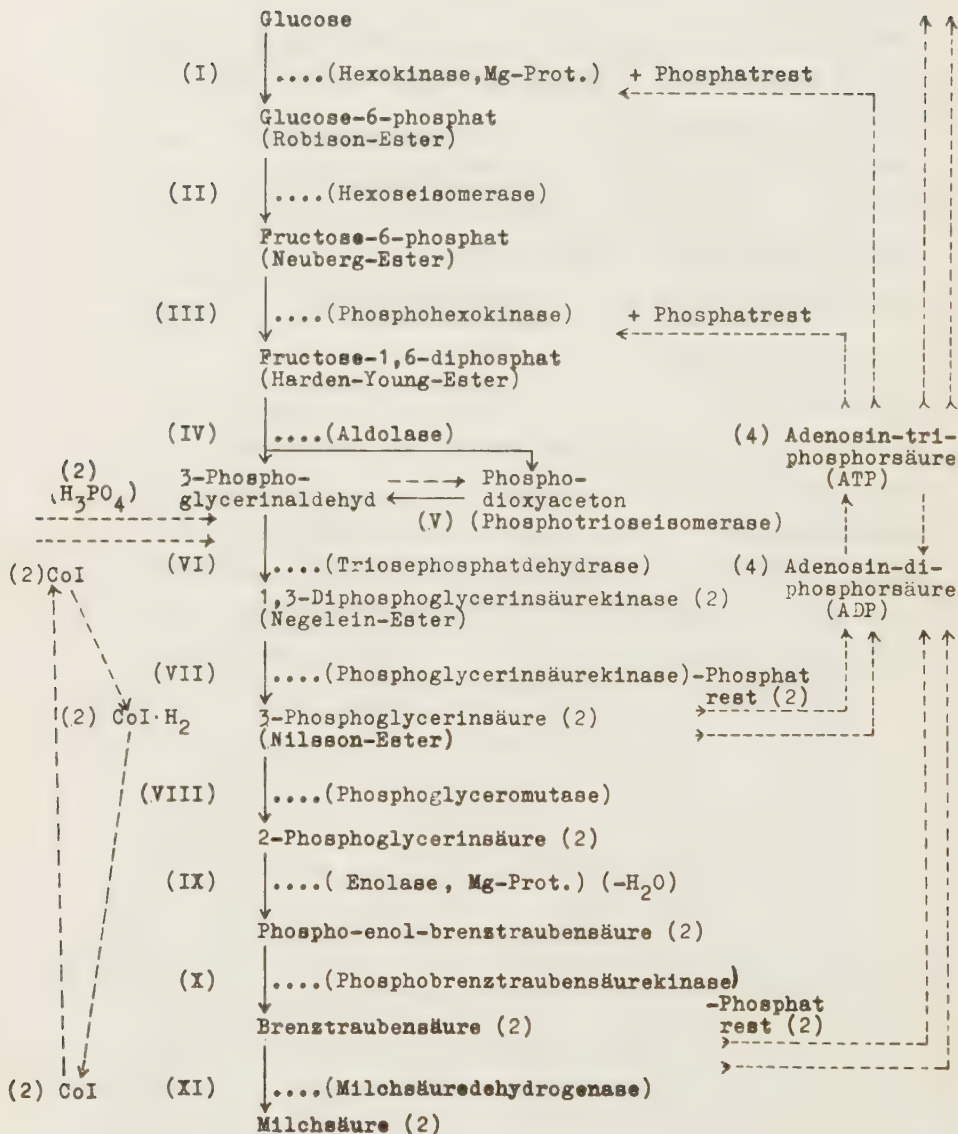
(1.dephosphorylierendes Ferment) entsteht nun aus der 1,3-Diphosphoglycerinsäure 3-Phosphoglycerinsäure (Nilsson-Ester) (38,39) (Reaktion VII); der reaktionsfähige Phosphorsäurerest wird auf ADP übertragen, wobei aus letzterem das energiereiche ATP entsteht. Nun erfolgt, katalysiert durch das Ferment Phosphoglyceromutase, eine Umesterung von 3-Phosphoglycerinsäure in 2-Phosphoglycerinsäure (42) (Reaktion VIII).

DEPHOSPHORYLIERUNG DER PHOSPHOGLYCERINSÄURE (IX - XI)

Die entstandene 2-Phosphoglycerinsäure spaltet nun unter dem Einfluß von Enolase, die nur in Gegenwart von Mg-Ionen wirksam ist (43,44,45), Wasser ab und es bildet sich Phosphoenolbrenztraubensäure (46,47) (Reaktion IX). Diese enthält die Phosphorsäure in energiereicher Bindung und überträgt sie unter Wirkung der Brenztraubensäurephosphokinase (2.dephosphorylierendes Ferment) (48) auf ADP, wobei Brenztraubensäure und ATP entstehen (Reaktion X).

Während die Glykolyse, wie schon oben erwähnt, bis zur Stufe der Brenztraubensäure analog der alkoholischen Gärung verläuft, tritt nun eine Gabelung ein. Auf dem Weg zur Milchsäure wird die Brenztraubensäure durch die Milchsäuredehydrogenase reduziert, wobei die prosthetische Gruppe dieses Ferments, das Di-phospho-pyridin-nucleotid (Co-I-H₂) den bei der Reaktion VI gewonnenen Wasserstoff wieder abgibt (Reaktion XI).

Schema der Glykolyse



	Seite
3	Allgemeiner Versuchsteil
3.1	Untersuchungsverfahren
3.1.1	Die manometrischen Messungen
3.2	Zusammenstellung der untersuchten Wirkstoffe
3.2.1	Zusammenstellung der untersuchten Krebsgewebe
3.3	V Versuchsergebnisse
3.3.1	Allgemeines
3.3.2	Ergebnisse der manometrischen Messungen
3.3.3	Diskussion der Versuchsergebnisse

- 3 Allgemeiner Versuchsteil
- 3.1 Untersuchungsverfahren
- 3.1.1 Die manometrischen Messungen

Der Begriff Glykolyse wurde schon früh von den Physiologen zur Beschreibung der Umwandlung von Kohlehydraten in Milchsäure benutzt; die exakte Bestimmung dieser Stoffwechselgröße wurde aber erst durch die Entwicklung der manometrischen Technik von O. Warburg (49) ermöglicht. Bei den vorliegenden Versuchen wurden Manometer mit konstantem Volumen, also einfache Warburg-Manometer, benutzt. Ursprünglich war ein Gerät dieser Art von Haldane und Barcroft (50) zur Blutgasmessung benutzt worden; O. Warburg verbesserte diese Manometer zu ihrer heutigen modernen Form. Zur Ermittlung der Hemmwirkung verschiedener Stoffe auf die anaerobe Glykolyse von menschlichem Carcinomgewebe wurde eine bestimmte Menge Gewebepulver in Krebs-Ringer-Bikarbonat-Lösung unter Zusatz von Glucose suspendiert. Bei streng anaeroben Bedingungen, konstanter Temperatur und unter mäßigem Schütteln wurden nach Zugabe der Wirkstofflösungen die Druckänderungen in bestimmten Zeitintervallen an den Manometern gemessen. Diese Methodik beruht im Prinzip darauf, daß Krebszellen die Glucose zu Milchsäure spalten, die wiederum aus dem in der Suspensionsflüssigkeit enthaltenen Natriumbikarbonat eine

äquivalente Menge CO_2 freimacht, die somit manometrisch erfaßt werden kann. Es konnte beobachtet werden, daß erst nach etwa einer halben Stunde Inkubationsdauer alle Gefäße gleichmäßig glycolysierten; daher wurden erst nach Ablauf dieser Zeit die Wirkstofflösungen zugesetzt und die Messung nach weiteren 30 Minuten begonnen. Die Manometerablesungen wurden in Intervallen von 10 Minuten vorgenommen und erstreckten sich über 120 Minuten. Da die Dauer der manometrischen Versuche maximal 3 Stunden nicht überschritt, war eine vollständige Asepsis der Lösungen nicht notwendig; um aber trotzdem einer groben Infektion der Gefäßinhalte vorzubeugen, wurden pro ccm Medium je 200 I E Penicillin und Streptomycin zugesetzt. Beide Antibiotica hatten, wie durch orientierende Versuche festgestellt wurde, keinen Einfluß auf die anaerobe Glykolyse.

Bei allen Versuchen handelte es sich um relative Messungen, bei denen durch Vergleich mit der in unvergifteten Parallelversuchen gebildeten Kohlendioxidmenge das Maß der Hemmung, ausgedrückt in Prozent, ermittelt wurde.

Dem Verband der Chemischen Industrie (Fonds der Chemischen Industrie) sei für die wertvolle Unterstützung der vorliegenden Arbeit vielmals gedankt.

3.2 Zusammenstellung der untersuchten Wirkstoffe

In der folgenden Tabelle sind die in dieser Arbeit untersuchten Substanzen, die verschiedenen chemischen und pharmakologischen Gruppen entstammen, aufgeführt. Außer den gebräuchlichen Handelsnamen sind auch die chemischen Bezeichnungen aufgeführt.

Tabelle 1

Lfd.Nr.	Handelsnamen	Chemische Bezeichnung
<u>Gruppe A (Cytostatica)</u>		
1	Endoxan	N,N-Bis (β-chloräthyl)-N'-O-propylen-phosphorsäureester-diamid
2	Mitomen	N-Oxyd-Lost
3	Honvan	Diaethyldioxystilben-diphosphat
4	Colcemide	Desacetyl-methylcolchicin
5	Myleran	1,4-Dimethansulfonyloxybutan
6	T E M	Triäthylenmelamin
7	Thio TEPA	Thio-triäthylen-phosphoramid
8	E 39 sol.	2,5-Bis-methoxy-äthoxy-3,6-bis-äthylenimino-benzochinon-(1,4)
9	Matuben I	Isaminblau-Na = Ca 51
10	Matuben II	2-Amino-4-methyl-6-β-naphthyl-amino-pyrimidin-formaldehydbisulfit
11	Matuben	= Matuben I + Matuben II
<u>Gruppe B (Farbstoffe und Verschiedene)</u>		
12	Rivanol	7-Äthoxy-3,9-diaminoacridin
13	Trypaflavin	3,6-Diaminoacridin
14	Fuchsin	Tri-amino-tolyl-di-phenyl-carbeniumchlorid

Tabelle 1 (Fortsetzung)

Lfd.Nr.	Handelsnamen (Verb.Nr.)	Chemische Bezeichnung
15	Malachitgrün	Oxydationsprodukt von Tetra- methyl-di-amino-tri-phenyl-methan
16	Dichlorphenol- indophenol	2,6-Dichlorphenolindophenol
17	Methylenblau	3,6-Diamino-tetramethyl-phen- thiazin
18	Eosin	Tetra-brom-fluorescein
19	Urethan	Carbaminsäure-aethylester
20	Chloralhydrat	
21	Mintacool	p-Nitrophenol-diaethylphosphat
22	Cardiacol	Cyclopentamethylen-tetrazol
23	Novocain	4-Amino-benzoesäure-diaethyl- amino-aethylester-hydrochlorid
24	Streptomycin	
25	Chloramphenicol	

Gruppe 2 (Basische Ätherester und Basische Diaether) (51,52)

1	A I	p-Piperidinoäthoxy-benzoesäure- methylester-hydrochlorid
2	A II	p-Piperidinoäthoxy-benzoesäure- äthylester-hydrochlorid
3	A III	p-Piperidinoäthoxy-benzoesäure- n-propylester-hydrochlorid
4	A IV	p-Piperidinoäthoxy-benzoesäure- n-butylester-hydrochlorid
5	A V	p-Piperidinoäthoxy-benzoesäure- isopropylester-hydrochlorid
6	A VI	p-Piperidinoäthoxy-benzoesäure- isobutylester-hydrochlorid
7	A VII	p-Piperidinoäthoxy-benzoesäure- n-hexylester-hydrochlorid
8	A VIII	p-Piperidinoäthoxy-benzoesäure- n-decylester-monocitrat
9	A IX	m-Piperidinoäthoxy-benzoesäure- butylester-hydrochlorid

Tabelle 1 (Fortsetzung)

Lfd.Nr.	Handelsnamen (Verb.Nr.)	Chemische Bezeichnung
10	B X	p-Piperidinopropoxy-benzoesäure-n-butylester-hydrochlorid
11	B XI	p-2,Methylpiperidinoäthoxy-benzoesäure-n-butylester-hydrochlorid
12	B XII	p-2,Methylpiperidinopropoxy-benzoesäure-n-butylester-hydrochlorid
13	B XIII	p-Morpholinoäthoxy-benzoesäure-n-butylester-hydrochlorid
14	B XIV	p-Morpholinopropoxy-benzoesäure-n-butylester-hydrochlorid
15	B XV	p-Pyrrolidinopropoxy-benzoesäure-n-butylester-hydrochlorid
16	C XVI	3,Methyl-4,Piperidinoäthoxy-benzoesäure-n-butylester-hydrochlorid
17	C XVII	3,Äthyl-4,Piperidinoäthoxy-benzoesäure-n-butylester-hydrochlorid
18	C XVIII	3,Propyl-4,Piperidinoäthoxy-benzoesäure-n-butylester-hydrochlorid
19	C XIX	3,Äthyl-4,Piperidinoäthoxy-benzoesäure-n-butylester-hydrochlorid
20	C XX	3,Crotyl-4,Piperidinoäthoxy-benzoesäure-n-butylester-hydrochlorid

Basische Diaether

21	I a	ß-(N,N-Diäthylamino)-äthyl-4-n-Butoxyphenyl-methyläther-hydrochlorid
22	II a	ß-(N,N-Diäthylamino)-äthyl-ß'-(4-n-Butoxyphenyl)-äthyläther-hydrochlorid
23	III a	ß-(N,N-Diäthylamino)-äthyl-γ'-(4-n-Butoxyphenyl)-propyläther-hydrochlorid

Tabelle 1 (Fortsetzung)

Lfd.Nr.	Handelsnamen (Verb.Nr.)	Chemische Bezeichnung
24	IV a	β -(N,N-Diaethylamino)-aethyl- α - -(4-n-Butoxyphenyl)-aethyl- aether-hydrochlorid
25	V a	β -(N,N-Diaethylamino)-aethyl- α' - -(4-n-Butoxyphenyl)-propylaether- hydrochlorid

Den Firmen Asta-Werke A.G., Brackwede, Burroughs Wellcome & Co, London, Bayer Leverkusen, Cassella A.G., Frankfurt am Main, Ciba A.G., Wehr/Bad., Farbwerke Hoechst AG., Frankfurt am Main, sowie Lederle Laboratories Division d. American Cyanamid Company, New York, sei an dieser Stelle für die freundliche Überlassung einiger ihrer Präparate vielmals gedankt.

Ebenso danke ich den Herren Dr. G. Helmstaedter und Dr. D. Meisel mir die von ihnen synthetisierten Substanzen zur Durchführung der Versuche überlassen zu haben.

Herstellung und Färbung der Gewebeschnitte.

Die Gewebestücke wurden zunächst, ihrer Größe entsprechend, 2-3 Stunden mit 10%iger Formalinlösung fixiert, danach zur Entfernung des verbliebenen Formalins mehrmals gewässert. Die anschließende Entwässerung erfolgte durch je zweistündiges Einlegen in 70%igen, 95%igen und absoluten Alkohol (ansteigende Alkoholreihe). Nun schloß sich eine Behandlung mit Aceton (30 Minuten) und Xylol (2 x 15 Minuten) an. Nach vollständiger Entwässerung wurde das Gewebe 6-8 Stunden in Paraffin (Schmpkt. 58°) eingelegt, dann abgekühlt und mit dem Mikrotom geschnitten; die Schnittstärke betrug 4-6 μ .

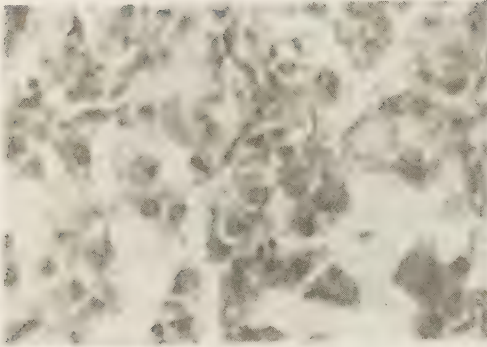
Zum Einfärben wurden die auf Objektträger verbrachten Schnitte zunächst mit Xylol entparaffiniert und nach vorsichtigem Abtupfen mit gehärtetem Filtrierpapier einer absteigenden Alkoholreihe (absoluter Alkohol, 95%iger A., 70%iger A., H₂O) unterzogen.

Nach 10 Minuten langem Einfärben mit Haematoxylin nach Meyer und anschließendem Bläuen durch Eintauchen in lauwarmes Wasser wurde die Gegenfärbung mit 1%iger Eosinlösung vorgenommen (2 Minuten). Der Schnitt wurde dann in 70%igem, 95%igem und absolutem Alkohol differenziert. Nach einer darauffolgenden Behandlung mit Carbol-Xylol wurde das Präparat in Kanadabalsam eingebettet.

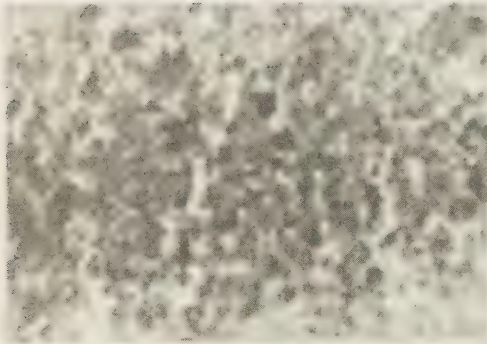
Die Zellkerne färben sich blau, das übrige Gewebe rot.

Bei den Aufnahmen selbst sind die Kontraste,
die sich im mikroskopischen Bild deutlich zeigen,
gedämpfter.

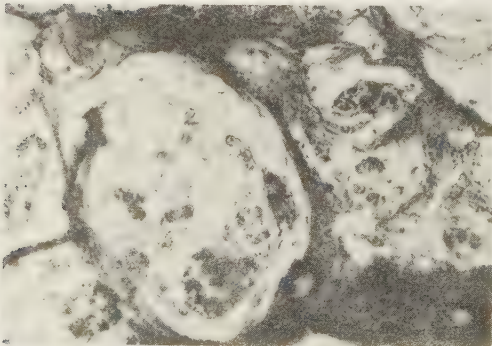
Die Zellkerne erscheinen bei einigen der vorliegenden
Aufnahmen lediglich dunkler als das übrige Gewebe.
Im folgenden sind 13 Aufnahmen von verschiedenen
Carcinomformen wiedergegeben.



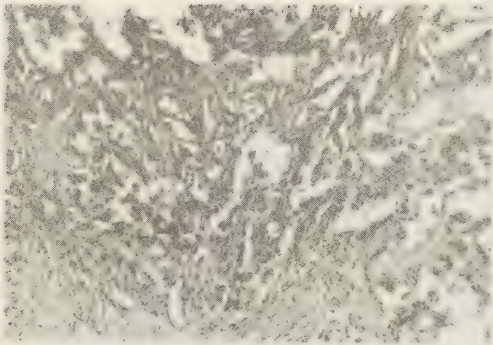
Bronchial-Carcinom
(Alveolarzell-Ca.)
Vergröss. 500 x



Gallenblasen-Carcinom
(Adenoides Ca.)
Vergröss. 42 x

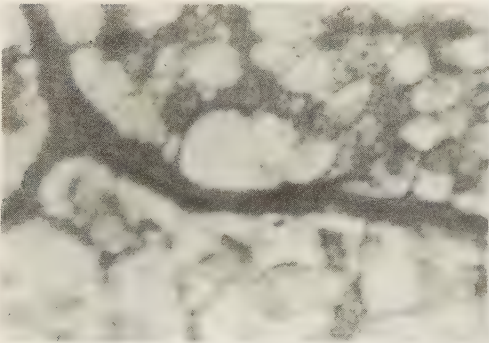


Gallenblasen-Carcinom
(Adenoides Ca.)
Vergröss. 42 x



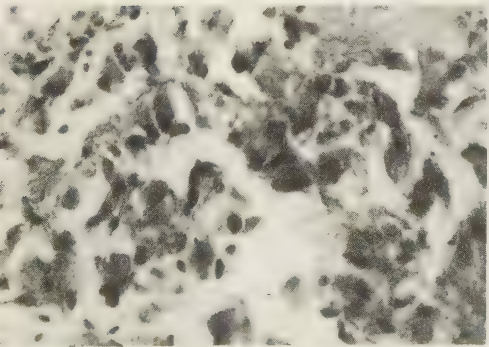
Hypernephrom d.Niere

Vergröss. 320 x



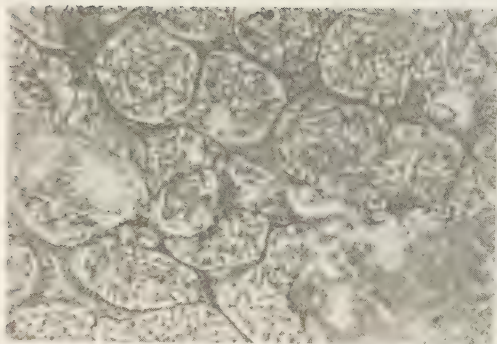
Hypernephrom d.Niere

Vergröss. 500 x

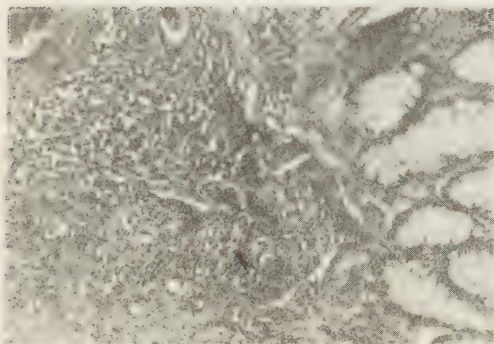


Mamma - Carcinom
(Solides Ca.)

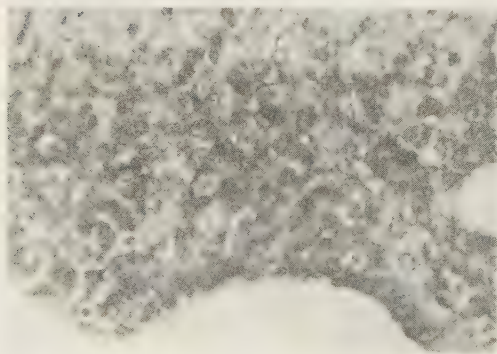
Vergröss. 320 x



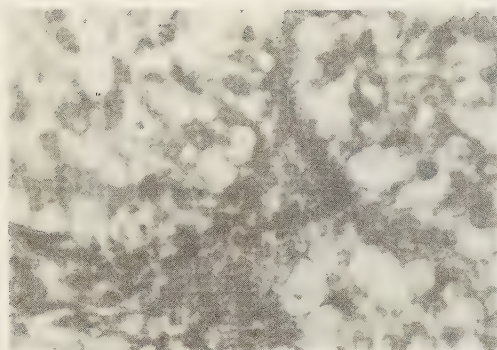
Mamma - Carcinom
(Adenoides Ca.)
Vergröss. 320 x



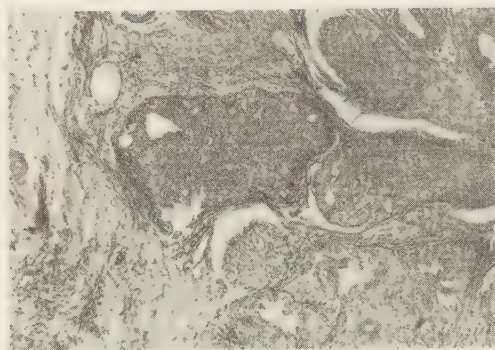
Oesophagus-Carcinom
(Adenoides Ca.)
Vergröss. 42 x



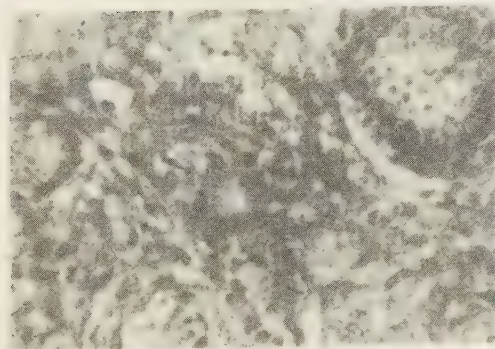
Oesophagus-Carcinom
Vergröss. 42 x



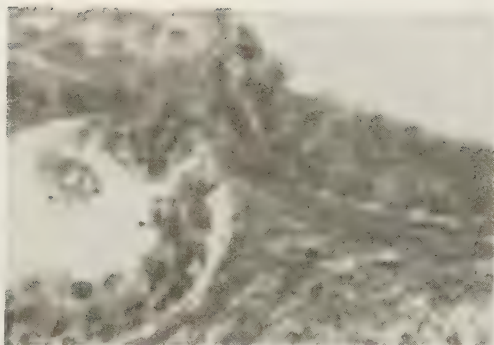
Rectum-Carcinom
(Adenoides Ca.)
Vergröss. 42 x



Rectum-Carcinom
(Adenoides Ca.)
rechts: normal
links: in Auflösung
Vergröss. 42 x



Sigma - Carcinom
(Adenoides Ca.)
Vergröss. 42 x



Sigma-Carcinom
(Gallert-Ca.)
Vergröss. 320 x

Alle Aufnahmen wurden mit einer "Edixa Reflex"
auf Agfacolor L Negativfilm hergestellt.

Herrn G. Berger (Patholog. Institut) sei an dieser
Stelle für seine Unterstützung bei der Durchführung
der Photoarbeiten vielmals gedankt.

3.2.1 Zusammenstellung der untersuchten Krebsgewebe

Alle in der Tabelle 1 aufgeführten Substanzen wurden an folgenden Objekten getestet:

Mamma - Carcinom

Bronchial - Carcinom

Magen - Carcinom

Rectum - Carcinom,

Sigma - Carcinom und

Colon - Carcinom.

Einzeluntersuchungen wurden, da das Material nicht so häufig anfiel, an folgenden Präparaten vorgenommen:

Gallenblasen - Carcinom

Hypernephrom

Prostata - Carcinom

3.3 Versuchsergebnisse

3.3.1 Allgemeines

Zielsetzung dieser Arbeit war es, festzustellen, welchen Einfluß einige Cytostatica (Gruppe A) und einige andere Stoffe (Gruppe B) auf den Ablauf der Glykolyse von menschlichen Tumoren in vitro zeigen.

Zur Untersuchung wurden ferner einige Stoffe (Gruppe C) herangezogen, die bereits früher als Inhibitoren verschiedener Enzyme beschrieben sind

und hinsichtlich ihrer Wirksamkeit auf hochgereinigte Diastase (53), die peptische Hydrolyse (54) und auf die Gärung der Hefe (55) geprüft wurden.

Da die aerobe Glykolyse, welche durch die Wechselwirkung von Atmung und Gärung entsteht, zu labil und zu sehr von verschiedenen äußeren Bedingungen abhängig ist (56), wurde bei den vorliegenden Versuchen die Hemmwirkung nur an der anaeroben Glykolyse untersucht. Um eventuelle Unterschiede der Hemmwirkung zwischen verschiedenen malignen Geweben zu ermitteln, wurden alle Substanzen an folgenden Tumoren getestet:

Bronchial - Carcinom

Mamma - Carcinom

Magen - Carcinom (außerdem Oesophagus-u.Cardia-Ca.)

Rectum-, Sigma- und Colon-Carcinom

Auf eine Trennung von Magen-, Oesophagus- und Cardia-Carcinome, sowie zwischen Rectum-, Sigma- und Colon-Carcinome konnte bei der folgenden tabellarischen Aufstellung verzichtet werden, da die bei diesen Neoplasmen ermittelten Hemmwerte keine oder nur geringfügige Abweichungen voneinander zeigten.

3.3.2 Ergebnisse der manometrischen Messungen

Die manometrischen Bestimmungen wurden mit allen in der Tabelle 1 A - C aufgeführten Substanzen in verschiedenen Wirkstoffkonzentrationen durchgeführt. Lediglich in drei Fällen (Gallenblasen-Carcinom, Hypernephrom und Prostata-Carcinom) konnten, da nicht genügend Tumormaterial zur Verfügung stand, nur die Stoffe der Gruppe A getestet werden. Soweit es die Löslichkeit der Substanzen erlaubte, wurden Konzentrationen von m/10, m/100, m/1000 und m/10 000 angewandt. Insgesamt wurden etwa 1300 manometrische Bestimmungen durchgeführt. Die ermittelten Werte stellen Mittelwerte jeweils mehrerer Versuchsreihen dar.

Von den untersuchten Substanzen der Gruppe A und B sind in den folgenden Tabellen nur noch die Handelsnamen, von den Stoffen der Gruppe C nur noch die Verbindungsnummern angeführt.

Tabelle 2 enthält die für Bronchial-Carcinome, Tabelle 3 die für Magen-Carcinome, Tabelle 4 die für Mamma-Carcinome, Tabelle 5 die für Rectum-Carcinome, Tabelle 6 die für das Gallenblasen-Carcinom und Tabelle 7 die für das Hypernephrom ermittelten Hemmwerte. Am Prostata-Carcinom wurde nur die Wirkung von Honvan untersucht.

Tabelle 2*)

Lungen-Carcinome

Lfd. Nr.	Substanz	% Hemmung durch eine Konzentration von			
		m/10	m/100	m/1000	m/10000
1	Endoxan	-	10	0	0
2	Mitomen	-	23	3	0
3	Honvan	-	0	0	0
4	Colcemide	-	0	0	0
5	Myleran	-	0	0	0
6	T E M	85	40	3	0
7	Thio Tapa	17	4	0	0
8	Bayer E 39 solub.	100	100	100	78
9	Matuben I	-	10	2	0
10	Matuben II	100	76	20	0
11	Matuben I+II aa	100	23	0	0
12	Rivanol	100	20	0	0
13	Trypaflavin	100	100	70	23
14	Fuchsin	-	100	75	30
15	Malachitgrün	100	100	100	70
16	Dichlorphenol- indophenol	100	100	80	20
17	Methylenblau	100	100	73	5
18	Eosin	100	80	21	0
19	Urethan	-	12	0	0
20	Chloralhydrat	45	10	0	0
21	Mintacol	-	100	100	70
22	Cardiazol	0	0	0	0
23	Novocain	0	0	0	0
24	Streptomycin	0	0	0	0
25	Chloramphenicol	0	0	0	0

*) Bei einigen Substanzen dieser, wie auch den folgenden Tabellen, war wegen der Schwerlöslichkeit zum Teil eine Überprüfung der Hemmung in m/10 nicht möglich.

Tabelle 2 (Fortsetzung)

Lungen - Carcinome

Lfd. Nr.	Substanz	Hemmung durch eine Konzentration von			
		m/10	m/100	m/1000	m/10000
1	A I	-	0	0	0
2	A II	-	2	0	0
3	A III	-	10	0	0
4	A IV	-	11	0	0
5	A V	-	10	0	0
6	A VI	-	15	0	0
7	A VII	-	20	0	0
8	A VIII	-	25	3	0
9	A IX	-	10	0	0
10	B X	-	20	0	0
11	B XI	-	60	5	0
12	B XII	-	90	10	0
13	B XIII	-	94	13	0
14	B XIV	-	100	10	0
15	B XV	-	100	5	0
16	C XVI	-	100	19	0
17	C XVII	-	100	50	0
18	C XVIII	-	100	45	16
19	C XIX	-	100	55	18
20	C XX	-	100	70	26
21	I a	-	71	21	0
22	II a	-	78	24	0
23	III a	-	95	30	0
24	IV a	-	0	0	0
25	V a	-	0	0	0

Tabelle 3

Magen - Carcinome
(Oesophagus- und Cardia - Carcinome)

Lfd. Nr.	Substanz	% Hemmung durch eine Konzentration von			
		m/10	m/100	m/1000	m/10000
1	Endoxan	-	34	5	0
2	Mitomen	-	24	0	0
3	Honvan	-	0	0	0
4	Colcemide	-	0	0	0
5	Myleran	-	0	0	0
6	T E M	90	50	10	0
7	Thio Tapa	29	15	0	0
8	Bayer E 39 solub.	100	42	37	29
9	Matuben I	-	21	10	0
10	Matuben II	100	54	9	0
11	Matuben I+II aa	80	53	5	0
12	Rivanol	100	70	0	0
13	Trypaflavin	100	100	100	75
14	Fuchsin	-	81	55	25
15	Malachitgrün	100	100	65	0
16	Dichlorphenol- indophenol	84	59	0	0
17	Methylenblau	100	100	75	5
18	Eosin	100	65	0	0
19	Urethan	-	49	8	0
20	Chloralhydrat	50	17	0	0
21	Mintacol	-	100	83	25
22	Cardiazol	0	0	0	0
23	Novocain	0	0	0	0
24	Streptomycin	0	0	0	0
25	Chloramphenicol	0	0	0	0

Tabelle 3 (Fortsetzung)

Magen - Carcinome

(Oesophagus- und Cardia - Carcinome)

Lfd. Nr.	Substanz	% Hemmung durch eine Konzentration von			
		m/10	m/100	m/1000	m/10000
1	A I	-	0	0	0
2	A II	-	4	0	0
3	A III	-	14	0	0
4	A IV	-	10	0	0
5	A V	-	14	0	0
6	A VI	-	16	0	0
7	A VII	-	23	2	0
8	A VIII	-	28	5	0
9	A IX	-	14	0	0
10	B X	-	25	0	0
11	B XI	-	65	9	0
12	B XII	-	95	12	0
13	B XIII	-	100	15	0
14	B XIV	-	100	10	0
15	B XV	-	100	6	0
16	C XVI	-	100	20	0
17	C XVII	-	100	55	10
18	C XVIII	-	100	60	19
19	C XIX	-	100	75	29
20	C XX	-	100	95	46
21	I a	-	85	23	0
22	II a	-	76	19	0
23	III a	-	85	25	0
24	IV a	-	0	0	0
25	V a	-	0	0	0

Tabelle 4

Mamma - Carcinome

Lfd. Nr.	Substanz	% Hemmung durch eine Konzentration von			
		m/10	m/100	m/1000	m/10000
1	Endoxan	-	14	0	0
2	Mitomen	-	15	2	0
3	Honvan	-	5	0	0
4	Colcemide	0	0	0	0
5	Myleran	-	0	0	0
6	T E M	68	22	0	0
7	Thio Tapa	12	1	0	0
8	Bayer E 39 solub.	100	80	57	5
9	Matuben I	-	12	1	0
10	Matuben II	100	65	0	0
11	Matuben I+II aa	62	14	0	0
12	Rivanol	100	65	0	0
13	Trypaflavin	100	100	53	20
14	Fuchsin	-	100	22	0
15	Malachitgrün	100	100	35	0
16	Dichlorphenol- indophenol	98	73	14	0
17	Methylenblau	100	100	70	3
18	Eosin	100	43	0	0
19	Urethan	-	10	0	0
20	Chloralhydrat	39	2	0	0
21	Mintacol	-	100	37	0
22	Cardiazol	0	0	0	0
23	Novocain	0	0	0	0
24	Streptomycin	0	0	0	0
25	Chloramphenicol	0	0	0	0

Tabelle 4 (Fortsetzung)

Mamma - Carcinome

Lfd. Nr.	Substanz	% Hemmung durch eine Konzentration von			
		m/10	m/100	m/1000	m/10000
1	A I	-	0	0	0
2	A II	-	0	0	0
3	A III	-	8	0	0
4	A IV	-	10	0	0
5	A V	-	9	0	0
6	A VI	-	12	0	0
7	A VII	-	16	0	0
8	A VIII	-	21	1	0
9	A IX	-	8	0	0
10	B X	-	18	0	0
11	B XI	-	55	2	0
12	B XII	-	81	8	0
13	B XIII	-	90	10	0
14	B XIV	-	95	5	0
15	B XV	-	100	3	0
16	C XVI	-	100	12	0
17	C XVII	-	100	45	0
18	C XVIII	-	100	40	8
19	C XIX	-	100	49	10
20	C XX	-	100	64	15
21	I a	-	58	0	0
22	II a	-	63	6	0
23	III a	-	74	11	0
24	IV a	-	0	0	0
25	V a	-	0	0	0

Tabelle 5

Rectum - Carcinome
(Sigma- und Colon-Carcinome)

Lfd. Nr.	Substanz	% Hemmung durch eine Konzentration von			
		m/10	m/100	m/1000	m/10000
1	Endoxan	-	16	0	0
2	Mitomen	-	28	20	14
3	Honvan	-	0	0	0
4	Colcemide	-	0	0	0
5	Myleran	-	0	0	0
6	T E M	88	47	10	0
7	Thio Tapa	17	5	0	0
8	Bayer E 39 solub.	100	100	100	86
9	Matuben I	-	16	9	0
10	Matuben II	100	87	20	0
11	Matuben I+II aa	75	56	15	0
12	Rivanol	100	37	5	0
13	Trypaflavin	100	100	98	28
14	Fuchsin	-	79	54	32
15	Malachitgrün	100	100	81	62
16	Dichlorphenol- indophenol	-	70	28	0
17	Methylenblau	100	56	7	0
18	Eosin	100	100	70	0
19	Urethan	-	14	0	0
20	Chloralhydrat	41	18	0	0
21	Mintacol	-	100	85	30
22	Cardiazol	0	0	0	0
23	Novocain	-	0	0	0
24	Streptomycin	0	0	0	0
25	Chloramphenicol	0	0	0	0

Tabelle 5 (Fortsetzung)

Rectum - Carcinome
(Sigma- und Colon - Carcinome)

Lfd. Nr.	Substanz	% Hemmung durch eine Konzentration von			
		m/10	m/100	m/1000	m/10000
1	A I	-	0	0	0
2	A II	-	0	0	0
3	A III	-	12	0	0
4	A IV	-	13	0	0
5	A V	-	13	0	0
6	A VI	-	17	0	0
7	A VII	-	21	0	0
8	A VIII	-	25	0	0
9	A IX	-	15	0	0
10	B X	-	25	0	0
11	B XI	-	70	11	0
12	B XII	-	100	21	0
13	B XIII	-	100	3	0
14	B XIV	-	100	10	0
15	B XV	-	100	9	0
16	B XVI	-	100	16	0
17	C XVII	-	100	73	13
18	C XVIII	-	100	95	25
19	C XIX	-	100	100	34
20	C XX	-	100	100	50
21	I a	-	41	0	0
22	II a	-	20	0	0
23	III a	-	42	5	0
24	IV a	-	0	0	0
25	V a	-	0	0	0

Tabelle 6
Gallenblasen - Carcinome

Lfd. Nr.	Substanz	% Hemmung durch eine Konzentration von			
		m/10	m/100	m/1000	m/10000
1	Endoxan	-	36	10	0
2	Mitomen	-	21	0	0
3	Honvan	-	0	0	0
4	Colcemide	-	0	0	0
5	Myleran	-	0	0	0
6	T E M	37	5	0	0
7	Thio Tapa	18	2	0	0
8	Bayer E 39 solub.	100	100	100	95
9	Matuben I	-	78	27	0
10	Matuben II	100	54	0	0
11	Matuben I+II	100	23	0	0

Tabelle 7
Hypernephrom d. Niere

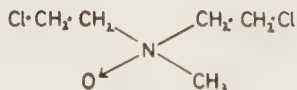
1	Endoxan	-	31	4	0
2	Mitomen	-	19	0	0
3	Honvan	-	0	0	0
4	Colcemide	-	0	0	0
5	Myleran	-	0	0	0
6	T E M	23	0	0	0
7	Thio Tapa	17	4	0	0
8	Bayer E 39 solub.	100	100	97	65
9	Matuben I	-	0	0	0
10	Matuben II	100	91	80	25
11	Matuben I+II	100	60	23	0

Tabelle 8
Prostata - Carcinome

1	Honvan	-	65	22	0
---	--------	---	----	----	---

Substanz folgt, ebenso wie das Honvan, dem Prinzip der "Transport-Wirkform". Durch geeignete chemische Bindung ist hier eine cancerotoxische Substanz in eine inaktive Transportform umgewandelt, aus der im Organismus, möglichst am Ort der beabsichtigten Wirkung, die aktive Wirkform durch Aufspaltung des Phosphamidringes (57) gebildet wird. Untersuchungen von H. A r n o l d und F. B o u r s e a u x (58) ergaben, daß nach Öffnung des Ringes eine Aufspaltung in Bis-(β -chloraethyl)-amin (I) und Phosphorsäureaminopropanol-ester (II) erfolgt, wobei Verbindung I Träger der cytostatischen Eigenschaften ist.

M i t o m e n hemmte die anaerobe Glykolyse mehr als Endoxan; die stärkste Beeinflussung war am homogenisierten Rectum-Carcinom festzustellen.

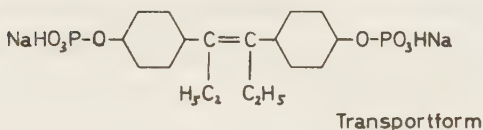


MITOMEN

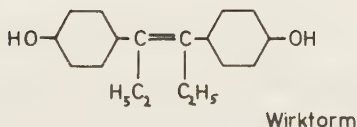
Hier betrug die Hemmung bei einer Wirkstoffkonzentration von m/10000 noch 14%; auch beim Bronchial- und Magen-Carcinom war eine Erhöhung der Hemmwirkung zu verzeichnen. Nach Untersuchungen von N. B r o c k und Mitarbeitern (59,60) hängt die biologische Wirksamkeit der freien funktionellen Grup-

pen von deren Reaktivität ab; diese wiederum ist abhängig von der Ionisation der Chloratome der β -Chloraethylgruppen, die im Gegensatz zu Endoxan beim N-Oxyd-Lost sehr leicht schon durch einfache Hydrolyse erfolgt. So wäre auch die stärkere Wirkung in vitro zu erklären.

Am ausgeprägtesten war eine selektive Wirkung durch H o n v a n festzustellen.



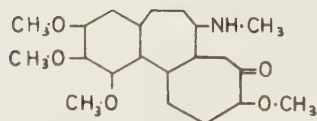
HONVAN



Während bei allen untersuchten Carcinomen, selbst nach dreistündiger Inkubation, Honvan vollkommen unwirksam war, konnte am Prostata-Carcinom eine beachtliche Hemmwirkung verzeichnet werden. Honvan, das Diphosphat des Dioxydiaethylstilben (Stilboestrol) folgt ebenfalls dem Prinzip "Transport-Wirkform" und ist, wie obige Versuche

bestätigten, ausschließlich beim Prostata-Carcinom wirksam. Im Honvan wurde der Vorschlag H. D r u c k-
r e y s (61), eine unwirksame Transportform zu entwickeln, die erst im Organismus möglichst am Ort der beabsichtigten Wirkung die sogenannte "Wirkform" freisetzt, erstmals verwirklicht (62). Diese organspezifische Wirkung beruht darauf, daß im Prostata-Carcinom eine wesentlich höhere Aktivität der Phosphatase vorliegt, als in allen anderen Geweben; durch dieses Ferment wird im Carcinom das Honvan dephosphoryliert und das cytostatisch hoch wirksame Diaethyldioxystilben freigesetzt.

C o l c e m i d e enthält das aus der Herbstzeitlose gewonnene Alkaloid Demecolcin = (Desacetyl-N-methylcolchicin) in reiner Form und wurde im Jahre 1950



COLCEMIDE

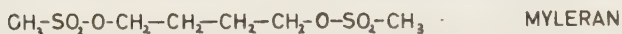
von R e i c h s t e i n und S a n t a v y (63) isoliert.

Dieses Präparat zeigte innerhalb der untersuchten Konzentrationen, auch bei längerer Inkubation keinerlei Hemmwirkung auf die Glykolyse.

Demecolcin ist ein ausgesprochenes Mitosegift und

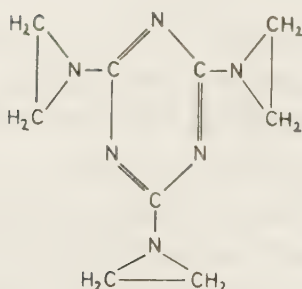
hemmt ebenso wie Colchicin die Zellteilung, indem es die Ausbildung der Teilungsspindel in der Metaphase während des Kernteilungsvorgangs verhindert. Diese hemmende Wirkung des Colchicins auf den Ablauf der Mitose ist seit den Arbeiten von S. J a c o b j (64) und A. D u s t i n (65) allgemein bekannt. Nach klinischen Untersuchungen von H. B o c k und R. G r o s s (66,67,68) und S. M o e s c h l i n, H. M e y e r und A. L i c h t m a n n (69) zeigt das Präparat eine fast elektive Wirkung und wird hauptsächlich zur Behandlung der chronischen myeloischen Leukaemie verwandt; andere Tumoren blieben unbeeinflusst.

M y l e r a n, 1,4-Dimethansulfonoxybutan, ein bifunktionelles Butanderivat, zeigte ebenfalls keinen hemmenden Effekt.



Das Präparat, das zur Gruppe der Ruhekerngifte gehört, wurde 1953 von A. H a d d o w und G.M. T i m m i s (70) entwickelt und auf Grund seiner am Walker-Tumor beobachteten wachstumshemmenden Wirkung in die Klinik eingeführt. Es bewährte sich allerdings nur bei der Therapie der chronischen myeloischen Leukaemie, aber nicht bei akuter Leukaemie oder anderen neoplastischen Erkrankungen (71,72).

Eine recht beachtliche Hemmwirkung konnte durch
T E M (Triaethylenmelamin = 2,4,6-Triaethylen-
imino-1,3,5-triazin) verzeichnet werden.

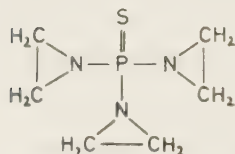


TEM

An Magen-, Rectum- und Bronchial-Carcinomen war noch bei einer Konzentration von m/1000 eine deutliche Hemmung zu beobachten; weniger ansprechbar, bezw. nur bei Anwendung höherer Wirkstoffkonzentration, waren das Gallenblasen-Carcinom und das Hypernephrom. Dieses Präparat, das während des Krieges als Wollveredelungsmittel von den Farbwerken Hoechst entwickelt wurde, ist 1951 von K a r n o w s k y und Mitarbeitern (73) in die Therapie neoplastischer Erkrankungen eingeführt worden. Es gehört ebenso wie Thio TEPA und Bayer E 39 zu der Gruppe der äußerst reaktionsfähigen Aethyleniminverbindungen, die durch Aufspaltung des Aethyleniminringes in Form der gebildeten Carbeniumradikale zur Reaktion kommen. Nach K.H. S c h m i d t (74) können diese Radikale mit Hydroxyl-, Amino- und Sulfhydrylgruppen reagieren,

so daß also sowohl in der normalen als auch in der malignen Zelle an Eiweißkörpern oder Fermenten wichtige funktionelle Gruppen durch Reaktion mit den Carbeniumradikalen ausfallen. Untersuchungen von H. H o l z e r (75) zeigten, daß beim Abbau der Glucose die zur Umwandlung des 1,3-Diphosphoglycerinaldehyds in 1,3-Diphosphoglycerinsäure notwendige Phosphoglycerinaldehyd-Dehydrase (Triosephosphatdehydrase) an der SH-Gruppe des Fermentproteins gehemmt wird und somit keine Brenztraubensäure für die Glykolyse mehr zur Verfügung steht. Das Präparat hat eine große Affinität zum lymphatischen System und gilt nach L. u. J. H e i l m e y e r (76) und H. S c h u l t e n und W. P r i b i l l a (77) als das Mittel der Wahl zur Behandlung der chronischen lymphatischen Leukämie; andere Tumoren konnten klinisch nicht eindeutig beeinflußt werden. Es ist also hier ein gewisser Widerspruch zwischen experimentellen und klinischen Befunden festzustellen. Die Auffassung, daß durch Hemmung der im Tumorgewebe gesteigerten Glykolyse, die nach O. W a r b u r g obligat mit dem malignen Wachstum gekoppelt ist (78,79,80), die Wachstumsgeschwindigkeit zurückgedrängt werden kann, scheint in vivo nicht allgemein übertragbar zu sein.

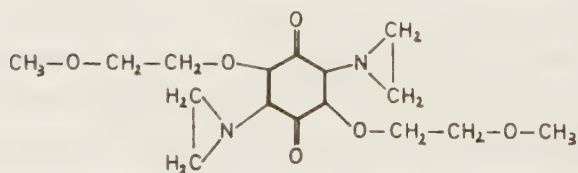
Im Gegensatz zu TEM zeigte Thio TEPA trotz der drei sehr reaktionsfähigen Gruppen eine wesentlich



Thio TEPA

schwächere Hemmwirkung.

Von allen untersuchten Substanzen erwies sich
Bayer E 39 s o l u b i l e am wirksamsten.



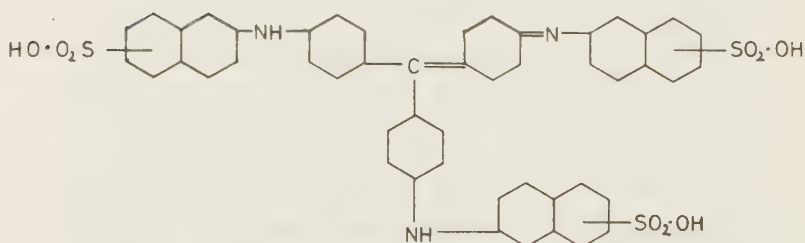
E 39 soluble

Wie aus den Tabellen ersichtlich, wurde die Glykolyse aller untersuchten Carcinomformen, von geringen Abweichungen abgesehen, ausgezeichnet gehemmt, die stärkste Beeinflussung war an den Zellen von Rectum- und Bronchialcarcinomen festzustellen. Obige Ergebnisse deuten auf eine breitere Anwendungsmöglichkeit hin, was sich auch durch verschiedene klinische Befunde zu bestätigen scheint (81 - 85).

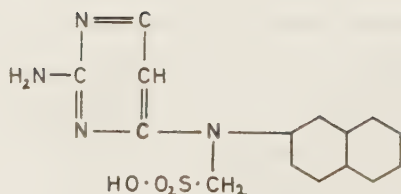
Anlaß zur Entwicklung von Cytostatica der Chinonreihe durch S. P e t e r s e n, W. G a u s s und E. U r b s c h a t (86) und experimentellen Prüfung durch Domagk, gab die intensive bakteriostatische Wirkung des Iversal (Chinon-guanylhydrazon-thiosemicarbazon) auf Streptokokken. Es zeigte sich, daß außer Chinonderivaten mit fungiciden und bakteriostatischen Eigenschaften auch solche mit einer starken cytostatischen Wirkung auf maligne Neubildungen darstellbar sind (87). L e h m a n n und Mitarbeiter (88) berichteten schon in den Jahren 1942 und 1945 über eine Mitosehemmung im Tubifexei durch Chinonderivate; M e i e r und Mitarbeiter (89,90) bestätigten diese Befunde an Fibroblastenkulturen, während B a d g e r (91) und P o w e l l (92) die Einwirkung verschiedener anderer Chinonderivate auf experimentelle Transplantationstumoren bei Mäusen beschrieben. Der genaue Angriffspunkt dieses Cytostaticums beziehungsweise sein Wirkungsmechanismus im Zellstoffwechsel ist noch nicht genau geklärt. H. H o l z e r (93) sieht die Störung des glykolytischen Abbaues in einer Blockierung der SH-Gruppen der Triosephosphatdehydrase; nach J. P ü t t e r (94) beruht die Wirkung auf einer Hemmung der Hexokinase. O. W a r b u r g (95) hingegen glaubt, daß die Krebszellen durch ihre Empfindlichkeit gegenüber

höheren Sauerstoffpartialdrucken durch oxydierende Substanzen, wie sie Chinone darstellen, besonders leicht angreifbar seien. E 39 solubile beeinflusst also verschiedene biochemische Systeme und schädigt in erster Linie Tumorzellen, bedingt durch besondere Reaktionsfähigkeit in schwach saurem Milieu, das je speziell in malignen Zellen durch die erhöhte Milchsäurebildung gegeben ist (96).

Untersuchungen an einem anderen Cytostaticum, dem **M a t u b e n**, das aus zwei Komponenten



MATUBEN I



MATUBEN II

besteht (Matuben I : Natriumsalz der Isaminblausäure; Matuben II : 2-amino-4-methyl-6- β -naphthylamino-pyrimidin-formaldehydbisulfit), ergaben, daß Matuben II im Vergleich zu Matuben I eine wesentlich stärkere Hemmwirkung zeigt. Die stärkste Beeinflussung durch Matuben II konnte am Hypernephrom nachgewiesen werden, während Matuben I hier keinerlei Hemmung der Glykolyse erkennen ließ. Mischungen beider Komponenten zeigten einen deutlichen Abfall der Hemmwirkung. Die Beeinflussung scheint sich also bei dem Gesamtpräparat zu Gunsten von Matuben II zu verschieben und würde in etwa den Befunden von v. K r e s s und G e r h a r t z (97) entsprechen. Danach zeigte Matuben I auf menschliche, z. T. leukaemische Knochenmarkszellen keine, Matuben II aber eine deutliche Wachstumshemmung.

R e m m e l e und R i c k (98) untersuchten Isaminblau bezüglich seiner Wirkung auf die Zellen des Mäuse-Ascitescarcinoms, konnten aber eine Beeinflussung des Energiestoffwechsels in vivo nicht nachweisen; in vitro dagegen war nach ihrer Versuchsanordnung die aerobe Glykolyse vom Glucosegehalt des Nährmediums abhängig.

Das Präparat (Isaminblau) wurde schon im Jahre 1930 von B e r n h a r d t (99) zur Therapie neoplastischer Erkrankungen empfohlen und erwies sich auch z.T. im klinischen Experiment an verschiedenen Patienten vorübergehend erfolgreich (100, 101).

Der genaue Angriffspunkt beziehungsweise Wirkungsmechanismus von Matuben I und des neu entwickelten Matuben II auf den Geschwulststoffwechsel konnte noch nicht geklärt werden. L. H e i l m e y e r zählt das Isaminblau zur Gruppe der unspezifischen Reizstoffe (102).

Von den untersuchten F a r b s t o f f e n zeigten fast alle erwartungsgemäß eine durchweg starke Hemmwirkung auf die Glykolyse. Schon seit Ehrlich spielen die Farbstoffe eine besondere Rolle in der Biochemie und seine Untersuchungen schufen die Grundlagen für die Chemotherapie. M. Y a b u s o e (103) untersuchte den Einfluß einiger Anilinfarbstoffe auf die Glykolyse von Flexner-Joblingschem Rattencarcinom und fand beachtliche Hemmwerte vor allem durch Triphenylmethanfarbstoffe, die keine Säuregruppen enthielten. Die Wirkung dieser Stoffgruppen auf oxydierende Enzyme wurde von Q u a s t e l und W h e a t l e y (104) untersucht und festgestellt, daß von den Farbstoffen jeweils die basischen am wirksamsten sind.

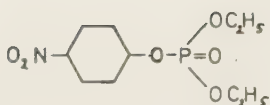
E l l i o t und B a k e r (105) führten die Untersuchungen an Tumorgewebe fort.

E. A l b e r t und Mitarbeiter (106) untersuchten einige Aminoacridine (Rivanol, Trypaflavin) bezüglich ihrer chemischen Konstitution zur bakteriostatischen Wirkung und fanden, daß die Wirkung dieser Stoffgruppe von einer ausreichend hohen Basizität abhängig ist. Auf Hefe zeigten Rivanol und Trypaflavin ebenfalls

einen stark gärungshemmenden Effekt (107). Ausschlaggebend für die baktericide und auch cytostatische Beeinflussung dürfte wohl die durch saure und basische Gruppen bedingte Affinität zu Zellbestandteilen sein. Allerdings darf man nicht übersehen, daß die Fähigkeit verschiedener Verbindungen zur reversiblen Oxydation bzw. Reduktion auch eine gewisse Rolle bei der bakteriostatischen Wirkung spielen kann. Daß Beziehungen zwischen der Reduktions-Oxydations-Fähigkeit und der bakteriostatischen Wirkung verschiedener Farbstoffe bestehen, konnte durch Arbeiten von F i s c h e r und Mitarbeitern (108) gezeigt werden.

Alle in dieser Arbeit untersuchten Farbstoffe, die zum Teil in der Praxis als gute Bakteriostatica oder Fungicide bekannt sind, zeigten auch eine deutliche Hemmung der anaeroben Glykolyse in vitro an menschlichen Carcinomformen. Inwieweit hier gewisse Parallelen zur Bakteriostase gezogen werden können, ist erst nach weiteren Versuchen zu klären.

U r e t h a n und C h l o r a l h y d r a t, die früher im Rahmen der cytostatischen Behandlung eine gewisse Rolle spielten, zeigten in den angewandten Konzentrationen einen nur schwach hemmenden Effekt. Mit M i n t a c o l, einem p-Nitrophenoldiaethylphosphat, konnte vor allem an Zellen des Lungencarcinoms eine beträchtliche Glykolysehemmung



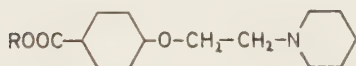
MINTACOL

herbeigeführt werden.

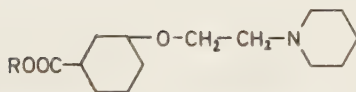
H. O s w a l d (109) wies am Ehrlich-Ascites-Carcinom eine wachstumshemmende Wirkung nach. Auf Grund seiner Untersuchungen sieht er von den sich bei der alkalischen Hydrolyse bildenden beiden Bruchstücken das p-Nitrophenol als Träger des wachstumshemmenden Effektes. Es ergab sich jedoch, daß das p-Nitrophenol allein im Vergleich zu dem Phosphorsäureester Mintacol wesentlich schwächer wirkt; dieser Unterschied wird darauf zurückgeführt, daß Mintacol als Phosphatester eine relativ große Affinität zu Geweben hoher Stoffwechselaktivität zeigt, wie es in erster Linie bei schnell wachsenden Tumoren der Fall ist, und daß p-Nitrophenol in den Tumorzellen selbst nach der Hydrolyse angereichert wird. Man könnte also hier, ähnlich wie bei Honvan' von einer "Transport-Wirkform" sprechen.

In Anbetracht der an Hefe beobachteten (110) Gärungs-
hemmung durch basische Aetherester (111) und basische
Diaether (112) , wurden auch in der vorliegenden Arbeit
einige dieser Körper bezüglich ihrer glykolysehemmenden
Wirkung auf Carcinomzellen untersucht.

Ebenso wie bei der Hefe konnten auch hier, wenn auch
nicht so stark ausgeprägt, gewisse Relationen zwischen
chemischer Konstitution und Wirkungstiefe gefunden
werden.

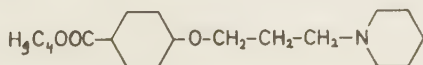


AI — AVIII



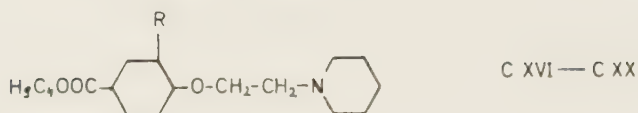
A IX

Bei den Verbindungen der Gruppe A war die Beeinflussung
noch relativ gering, aber doch innerhalb der homologen
Reihe ansteigend und entsprach etwa den Befunden an der
Hefe. Bei Variierung der Aetherkomponenten durch Ketten-
verlängerung zwischen Stickstoff und Sauerstoff oder
Einführung einer Methylgruppe am Piperidinkern ist eine
Steigerung der Wirkungstiefe zu verzeichnen. (Gruppe B).



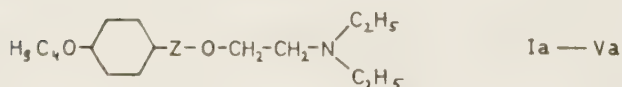
BX — BXV

Auch die Homologen der Gruppe C



zeigten deutlich ein Ansteigen der Wirkung, die mit der Vergrößerung des Alkylrestes parallel verläuft.

Von den basischen Diaethern (Gruppe a) zeigten nur die



Verbindungen Ia - IIIa eine Hemmwirkung; im Gegensatz zu den untersuchten basischen Aetherestern konnten hier keine Zusammenhänge zwischen Kettenverlängerung und verstärkter Hemmwirkung festgestellt werden.

	Seite
4 Experimenteller Teil	62
4.1 Die manometrische Bestimmung	62
4.1.1 Versuchsmaterial	62
4.1.2 Arbeitsverfahren	64
4.1.3 Orientierende Versuche	71
4.1.3.1 Untersuchungen über die Lebensdauer maligner Gewebe außerhalb des Organismus	71
4.1.3.2 Wasserstoffionenkonzentration	72
4.1.3.3 Der Einfluß von Milieuänderungen auf das Gewebe	75
4.1.3.4 Glykolyse bei vorbestrahltem Gewebe	76

- 4 Experimenteller Teil
- 4.1 Die manometrische Bestimmung
- 4.1.1 Versuchsmaterial

Pufferlösungen

Für alle Versuche wurde Krebs-Ringer-Bikarbonat-Lösung verwandt (113), die vor jeder Messung aus Stammsalzlösungen frisch herzustellen war. Diese Gesamtmischung wurde dann etwa 10 Minuten bei der in derartigen Fällen üblichen Temperatur von 38° mit einem Gasgemisch von 5% CO_2 /95% N durchströmt. Zum Transport des malignen Gewebes wurde als Medium einfache Ringerlösung oder Phosphatpuffer Saline (PPS) mit Glucosezusatz benutzt; die Wasserstoffionenkonzentration der Puffer wurde mit einer Glaselektrode kontrolliert.

Glucoselösung

Die Endkonzentration der zugesetzten Glucose betrug 0,2%. Zur Herstellung dieser Lösung wurde 1,0 g Glucose p.a. Merck in Krebs-Ringer-Lösung zu 10 ml gelöst und in kochendem Wasserbad 5 Minuten lang erhitzt. Nach Abkühlen der jeweils frisch bereiteten Lösung wurden 2 ml zu 100 ml Krebs-Ringer-Bikarbonat-Puffer zugesetzt.

Hemmstofflösungen

Alle zu untersuchenden Stoffe wurden in verschiedenen molaren Konzentrationen in Bezug auf ihre Wirkung gegenüber der anaeroben Glykolyse getestet. Die Lösung der Substanzen in glucosehaltigem Krebs-Ringer-Bikarbonat-Puffer erfolgte in der Weise, daß nach Einfließen in das Reaktionsgemisch die gewünschte Konzentration erreicht wurde.

Behandlung des malignen Gewebes

Das Carcinom wurde sofort nach der Operation aus dem befallenen Organteil freipräpariert und ein Teil des malignen Gewebes in körperwarmer ($37-38^{\circ}$), glucosehaltige Ringerlösung verbracht. Um die Temperatur während des Transportes vom Operationssaal in das Institut konstant zu halten, wurde der die Ringerlösung mit den Gewebeteilen enthaltende Glasbehälter in ein entsprechend vortemperiertes und verschließbares Dewargefäß eingesetzt.

Nach Entfernung bereits nekrotischer Gewebeteile, die sich durch ihre gelblich-graue Farbe deutlich von den weißen, nicht nekrotischen Partien unterscheiden, kamen nur solche Präparate zur Verwendung, die größtenteils aus Carcinomzellen bestanden; mikroskopische Kontrollschnitte ergaben, daß diese Objekte etwa 90% maligne Zellen enthielten. Kleinere Anteile normaler Zellen

konnten vernachlässigt werden, da es sich bei den vorliegenden Messungen um Werte handelt, die auf einen gleichzeitig mitlaufenden, unvergifteten Kontrollversuch bezogen wurden.

Herstellung des Homogenisats

Zu diesen Versuchen wurde das Gewebe, nach Entnahme aus dem Transportgefäß, mit frischer, körperwarmer Ringerlösung abgespült und mit Filtrierpapier vorsichtig abgetrocknet. Dann wurde eine entsprechende Menge des Carcinoms rasch abgewogen, im Homogenisator zerkleinert und zur Herstellung einer 10%igen Zellsuspension mit glucosehaltigem Krebs-Ringer-Bikarbonat-Puffer verdünnt. Von dieser Suspension wurde sofort je 1 ml in die vorbereiteten Reaktionsgefäße einpipettiert. Der verwendete Homogenisator (Braun-Melsungen) war mit Teflonstempeln ausgerüstet, um Glasabrieb von der Wand des Arbeitsgefäßes zu vermeiden. Die Homogenisate wurden vor jedem Versuch frisch hergestellt. Zum Abmessen der Zellsuspension wurden Pipetten mit leicht vergrößerter Öffnung (geeicht) benutzt.

4.1.2 Arbeitsverfahren

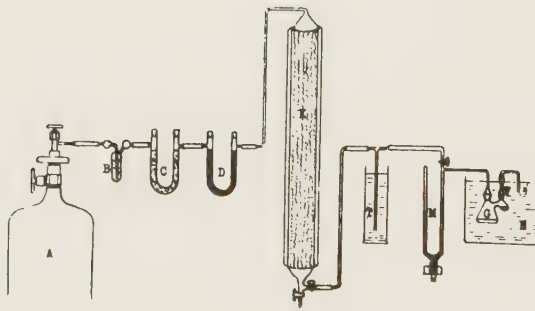
Zur Durchführung der vorliegenden Versuche wurde eine Warburg-Apparatur-SL der Firma B. Braun-Melsungen mit geeichten, kegelförmigen Reaktionsgefäßen benutzt.

Vor jedem Versuchsbeginn wurden die Gefäße gründlichst gereinigt. Zur Entfernung von Fettresten wurden sie zunächst 30 Minuten in ein Benzinbad gegeben, anschließend mit heißem Wasser mehrfach durchgespült und 24 Stunden in Nitriersäure (114) aufbewahrt. Nach mehrmaligem Spülen mit destilliertem und bidestilliertem Wasser wurden die Gefäße 12 Stunden bei 80°C getrocknet.

In den Hauptraum der Reaktionsgefäße wurden 1 ml Gewebesuspension und 2 ml des schon vorher mit dem Gasgemisch bei der Versuchstemperatur gesättigten CO₂-Bikarbonat-Puffers einpipettiert; in den Seitenarm wurden 0,5 ml Hemmstofflösung eingebracht. Die Wasserstoffionenkonzentration aller Lösungen betrug 7,5 pH. Nun wurden die Reaktionsgefäße rasch mit den dazugehörigen Manometern gasdicht verbunden und in ein auf 38°C vorgewärmtes Thermostatenbad eingebracht. Zum Fetten und Dichten der Gefäßschliffe diente ausschließlich "Silicone zäh" (Bayer, Leverkusen), das sich ausgezeichnet bewährte und Adeps lanae vorzuziehen ist. Unter mäßigem Schütteln wurden nun Manometer und Gefäße zur Entfernung der Luft und Herstellung des Gasgleichgewichtes etwa 10 Minuten mit einem Gasgemisch von 5% Kohlensäure in Reinstickstoff (Farbwerke Hoechst)* durchströmt

*) Der Firma Farbwerke Hoechst A.G. sei an dieser Stelle für die Herstellung und Überlassung des Gasgemisches vielmals gedankt.

Abbildung 1



Zur genauen Kontrolle der Strömungsgeschwindigkeit wurde das einer Stahlbombe (A) entnommene Gasgemisch durch einen mit konzentrierter Schwefelsäure gefüllten Blasenähler (B) geleitet. Um strikt anaerobe Versuchsbedingungen zu gewährleisten, wurde zur Entfernung eventuell noch vorhandenen Sauerstoffs die Gasmischung nach Trocknung durch Calciumchlorid (C) über Absorptionskohle (D) vorgereinigt und in langsamem Strom durch einen Kupferturm (K) geleitet (115) (116). Die Füllung dieses Turmes bestand aus aktivem Kupfer, das auf einer Trägersubstanz fein verteilt war und durch einen Heizwiderstand auf 200°C erwärmt wurde. Zur Erzielung des höchsten Grades anaerober Bedingungen kamen zur Verbindung der einzelnen Elemente nur Polyäthylenschläuche zur Verwendung. Dieses so gereinigte Gasgemisch strömte nun durch ein T-Rohr-Sicherheitsventil (T) und wurde über ein Gasverteilungsrohr zu Manometern und Gefäßen (M,G) geleitet. Um zu kontrollieren, daß eine ausreichende Gasmenge durch Manometer und Gefäße strömte, waren die im Schliff drehbaren Ventile (V) der Reaktionsgefäße mit einem umgekehrten U-Rohr verbunden, dessen eine Öffnung in die Füllung des Thermostatenbades (E) hineinragte; durch die dort austretenden Gasblasen war eine Kontrolle der Durchströmungsgeschwindigkeit möglich. Nach Beendigung der Durchgasung wurden zunächst die

Schlauchventile, dann die Manometerhähne geschlossen und die Schlauchverbindungen gelöst. Nun wurde die Schüttelgeschwindigkeit auf 90 Schwingungen pro Minute bei einer Amplitude von 3 cm gesteigert und nach einer Inkubationszeit von 30 Minuten die Hemmstofflösungen aus den Ansatzbirnen in den Hauptraum der Reaktionsgefäße eingekippt. Nach weiteren 30 Minuten Einwirkungszeit wurde, nachdem die Manometerflüssigkeit auf einen geeigneten Nullpunkt eingestellt war, mit den Messungen begonnen. Diese erstreckten sich über 60 bzw. 120 Minuten insgesamt; die Zwischenablesungen erfolgten in Intervallen von 10 Minuten.

Bei allen Versuchen diente ein Thermobarometer, dessen Gefäß dieselben Flüssigkeiten und das gleiche Gasgemisch wie die anderen Gefäße, aber keine Zellen enthielt, zur Ermittlung und Korrektur von Schwankungen der Badtemperatur oder des Barometerdrucks während des Versuchs. Zur Feststellung der glykolytischen Aktivität und Berechnung der Hemmwirkung wurden in jeder Versuchsreihe zwei unvergiftete Kontrollansätze mitgeführt.

Berechnung der Versuchsergebnisse

Aus den beobachteten Druckänderungen h wurde die Menge des gebildeten Gases errechnet. Alle Volumina sind in Kubikmillimeter, alle Drucke in Millimeter-Manometerflüssigkeit angegeben.

Den Berechnungen lag der von O. W a r b u r g als "Gefäßkonstante" bezeichnete Proportionalitätsfaktor

$$k_{CO_2} = \frac{V_G \cdot \frac{273}{T} + V_F \cdot \mathcal{L}}{P_0} \text{ zugrunde (117).}$$

Die Gefäßkonstante bleibt für die jeweiligen Versuchsbedingungen konstant und ist vom Barometerdruck unabhängig; k bezieht sich nur auf einen bestimmten Wert von V_F , V_G , T und $\mathcal{L}$.

In der Formel bedeuten:

- V_G = Das Volumen des Gasraumes im Reaktionsgefäß inclusive der Manometerkapillaren bis zu einer Höhe von 150 mm im geschlossenen Schenkel in Mikrolitern;
- V_F = Das Volumen der im Reaktionsgefäß enthaltenen Flüssigkeit in Mikrolitern (bei allen vorliegenden Versuchen: 3,5 ml = 3500 Mikroliter);
- T = Thermostatenbadtemperatur, bei der die Versuche durchgeführt wurden in absoluten Graden ($273 + 38 = 311$);
- $\mathcal{L}$ = Der Bunsen'sche Absorptionskoeffizient des gebildeten Gases bei der absoluten Temperatur T (bei den vorliegenden Versuchen: 0,54) (118);
- P_0 = Der Normaldruck, ausgedrückt in mm Manometerflüssigkeit (bei den durchgeführten Versuchen

Brodie'sche Lösung mit einer Dichte von 1,033).

Somit ergibt sich:

$$P_0 = 760 \frac{13,6}{1,033} = 10000$$

(13,6 = Dichte des Quecksilbers)

Die auf diese Weise errechneten Werte für k_{CO_2} wurden mit dem durch das Thermobarometer korrigierten Druckunterschied multipliziert und somit die entwickelte Menge Kohlensäure ermittelt.

4.1.3 Orientierende Versuche

4.1.3.1 Untersuchungen über die Lebensdauer maligner Zellen ausserhalb des Organismus

Um festzustellen über welchen Zeitraum hinweg die Gewebeteile in künstlichen Medien aufbewahrt werden konnten ohne ihre glykolytische Wirkung zu verlieren, wurden folgende Versuche durchgeführt:

Je drei Gefäße wurden mit glucosehaltiger Ringer-, Hanks- und PPS-Lösung beschickt und in jedes etwa gleich große Schnitte Tumormaterial eingelegt. Anschließend wurden die Ansätze im Brutschrank bei 38°C gehalten. Die Lösungen waren ständig mit einer Gasmischung von 5% CO₂ / O durchströmt und wurden alle 24 Stunden erneuert. Um auch hier wegen der langen Inkubationszeit eine Infektion zu vermeiden, wurden den verwendeten Lösungen je 100 IE Penicillin und Streptomycin zugesetzt; vorausgehende Versuche ergaben keinerlei Einfluß auf die anaerobe Glykolyse durch diese beiden Antibiotica.

In Abständen von 24 Stunden wurden jedem Gefäß Gewebeproben entnommen und nach Homogenisation das Maß der anaeroben Glykolyse manometrisch bestimmt. Die Messungen ergaben, daß die glykolytische Wirkung nach 6 x 24 stündiger Inkubationszeit nur um ein wenig von den nach 24 Stunden ermittelten Werten abnahm.

4.1.3.2 Wasserstoffionenkonzentration

Die Wasserstoffionenkonzentration aller Lösungen wurde vor jedem Versuchsbeginn mit einer Einstabmeßkette kontrolliert. Alle zu untersuchenden Substanzen waren in glucosehaltigem CO_2 -Bikarbonat-Puffer gelöst. Bei einigen hochkonzentrierten Lösungen einzelner Substanzen war eine geringfügige Abweichung des erwünschten pH-Wertes festzustellen. Inwieweit diese Änderung und pH-Änderungen im allgemeinen die anaerobe Glykolyse beeinflussen, war Gegenstand einer Reihe von Versuchen. Zu diesem Zweck wurde lediglich die Wasserstoffionenkonzentration verändert und das Maß der Glykolyse im Bereich zwischen pH 6,0 und 8,0 ermittelt.

Wie aus der Tabelle ersichtlich ist, nimmt die glykolytische Wirkung mit steigendem pH zu und erreicht bei pH 7,7 ein Maximum; bei einer Wasserstoffionenkonzentration von pH 6,5 war keine Glykolyse mehr meßbar.

Reaktionsgemisch: 3,5 ml

(1,0 ml Gewebesuspension 10%)

(2,5 ml Suspensionsmedium)

Pufferlösungen :

Krebs-Ringer-Bikarbonat-Lösung; pH verändert durch
verschieden starke Sättigung mit CO_2 in den Bereichen
von pH 6,0 bis pH 8,3.

Glucose : Endkonzentration 0,2%

Temperatur : 38°

Schüttelfrequenz: 90

Gasraum : 95% N / 5% CO_2

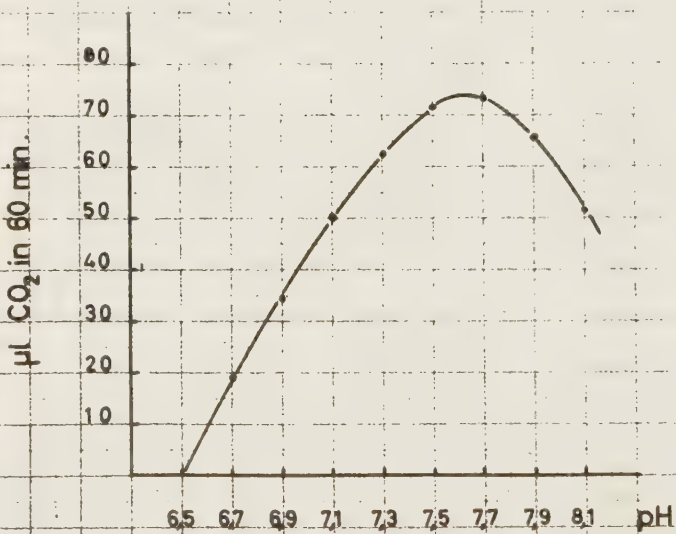
h_{CO_2} = Gesamtentwicklung CO_2 in 60 Minuten.

Alle Ablesungen sind mit dem Thermobarometer korrigiert.

Tabelle 10

pH	6,5	6,7	6,9	7,1	7,3	7,5	7,7	7,9	8,1
min.									
10	0	3,3	5,6	8,4	10,5	11,8	12,5	10,6	8,9
20	0	3,4	5,8	8,3	9,9	12,0	12,1	10,4	8,4
30	0	3,3	5,7	8,2	10,3	12,1	12,3	10,8	8,6
40	0	3,2	5,8	8,1	10,5	11,7	11,9	11,1	8,7
50	0	3,4	5,7	8,4	10,4	11,5	12,0	10,9	8,5
60	0	3,3	5,5	8,6	10,6	12,0	12,5	11,3	8,4
h_{CO_2}	0	19,9	34,1	50,0	62,2	71,1	73,3	65,1	51,5

Abbildung 2



4.1.3.3 Der Einfluß von Milieuänderungen auf das Gewebe

Mehrere Versuche ergaben, daß die glykolytische Aktivität in den ersten Stunden nach der Entfernung des Carcinoms aus dem Organismus verhältnismäßig gering und zum Teil kaum meßbar war; erst nach etwa 12-24 stündiger Inkubation (38°C) zeigte das Gewebe wieder normale Gärungswerte. Diese Empfindlichkeit gegen Änderung der Umgebungsbedingungen war hauptsächlich an Bronchial- und Mamma-Carcinomen nachzuweisen, während alle anderen hier untersuchten Carcinomformen unter den gewählten Aufbewahrungsbedingungen kaum eine veränderte Glykolyseaktivität nach der Entfernung aus dem Organismus zeigten. Es scheint also eine unterschiedliche Empfindlichkeit vorzuliegen. Nach Änderung von Umgebungsbedingungen kann es also unter Umständen längere Zeit dauern, bis ein neues Stoffwechselgleichgewicht wieder erreicht ist. Diese Beobachtung konnte inzwischen von einigen Autoren bestätigt werden. O. S u s c h n y, G. K e l l n e r und Mitarbeiter (119) haben im Rahmen ihrer Untersuchungen auf diesen Faktor ausführlich hingewiesen. Arbeiten von D. M a t z e l t und J. H o m a n n (120) zeigen ebenfalls sehr deutlich, wie leicht das Gleichgewicht von Gewebekulturen gestört werden kann und daß es unter Umständen viele Stunden dauert, bis wieder konstante Verhältnisse vorliegen. Auch Untersuchungen von Y. B e c k e r und Mitarbeitern (121) über den zeitlichen Verlauf des Glucoseabbaues bei Zellkulturen nach Milieuänderungen, zeigten über viele Stunden sich ändernde Werte.

4.1.3.4 Glykolyse bei vorbestrahltem Gewebe

Bei einigen vor dem operativen Eingriff vorbestrahlten Mamma-Carcinomen wurde das Maß der anaeroben Glykolyse untersucht. Dabei konnte festgestellt werden, daß bei diesen Tumoren die anaerobe Glykolyse gegenüber der von unbestrahlten Geweben nur sehr gering und zum Teil überhaupt nicht mehr meßbar war. An diesen Carcinomen war eine Ermittlung von Hemmwerten nicht möglich. Dieser toxische Effekt, bzw. die Hemmung der Glykolyse durch das bei der Röntgenbestrahlung entstehende H_2O_2 beruht auf einem starken Katalasemangel in den Krebszellen selbst (122,123). O. W a r b u r g (124) zeigte in mehreren Versuchen, daß Krebszellen wegen dieses Katalasemangels gegen H_2O_2 wesentlich empfindlicher sind als normale Körperzellen; er erbrachte den Beweis, (125,126) daß die Wirkung der Röntgenstrahlen eine indirekte, über H_2O_2 verlaufende und selektive ist. Die Analyse des Mechanismus der Glykolysehemmung nach Röntgenbestrahlung durch H. H o l z e r (127) ergab, daß das gebildete Wasserstoffperoxyd durch , Eingriff in den DPN-Stoffwechsel die DPN-Konzentration in den Tumorzellen erniedrigt und so, analog der Wirkung carcinostatischer Aethylenminverbindungen, den Glykolyseablauf schädigt.

5 Zusammenfassung

Auf Grund der Theorie von O. W a r b u r g, nach der maligne Gewebe ihre zum Wachstum notwendige Energie fast ausschließlich durch Glykolyse decken, Wachstum und Glykolyse also eng miteinander gekoppelt sind, wird hier eine Möglichkeit gesehen, durch sogenannte Glykolysehemmer eine Beeinflussung des malignen Wachstums zu erzielen. In Anbetracht der Tatsache, daß einige Autoren die Gültigkeit der Ergebnisse, die in Tierversuchen erhalten wurden, als nicht immer auch auf den Menschen übertragbar ansehen, wurde in dieser Arbeit ein anderer Weg versucht. An Zellen frisch operierter menschlicher Carcinome wurde der Einfluß bekannter Cytostatica und verschiedener anderer Substanzen in vitro untersucht.

In einer Warburg-Apparatur wurde das Maß der anaeroben Glykolyse mit und ohne Wirkstoffzusatz (Blindversuch) manometrisch bestimmt. Durch Vergleich der Ergebnisse der Versuche mit Hemmstoff und der Blindversuche wurde die prozentuale Hemmung ermittelt. Als Substanz diente bei allen Versuchen glucosehaltige Ringer-Bikarbonatlösung nach Krebs. Der Zeitraum der Messungen betrug maximal 3 Stunden.

Außer den Cytostatica wurden, neben einigen anderen Substanzen, auch verschiedene Farbstoffe sowie einige homologe Reihen basischer Aetherester und basischer Diaether, die schon in früheren Versuchen auf die Gärung

und das Wachstum der Hefe hemmenden Einfluß gezeigt hatten, getestet.

Durch vergleichende Untersuchungen an Carcinomen verschiedenen Ursprungs konnten auch in vitro zum Teil deutliche Unterschiede in der Hemmwirkung festgestellt werden; inwieweit hier biochemische Unterschiede im Zellstoffwechsel, histologische Unterschiede oder beide Faktoren verantwortlich sind, bedarf noch der Klärung.

Meinem hochverehrten Lehrer, Herrn Professor Dr.C.Rohmann, fühle ich mich für die Anregung und Anleitung zu dieser Arbeit sowie für alle Förderung in wissenschaftlicher und persönlicher Hinsicht zu tiefstem Dank verpflichtet.

Ganz besonderen Dank schulde ich Herrn Professor Dr. med. R. Geissendörfer, der mir durch sein so überaus freundliches Entgegenkommen die Durchführung dieser Arbeit ermöglichte.

6 Literaturverzeichnis

- (1) W. Rick Naturwissenschaften 44, 67 (1957)
 W. Remmele
- (2) H. Schulten Med. Klin. 39, 1631 (1955)
 W. Pribilla
- (3) O. Warburg Arch. Bioch. Biophys. 78. 573
 (1958)
- (4) H. Haddow in K.H.Bauer " Das Krebsproblem",
 S. ; Springer-Verl. 1949
- (5) K. H. Bauer " Das Krebsproblem"
 Springer-Verl. 1949
- (6) C. Neuberg " Handbuch der Biochemie"
 2. Teil, S. 380, 1909
- (7) H. Blumenthal " Die chem. Vorgänge bei der Krebs-
 krankheit", Berlin 1910
- (8) O. Warburg Biochem. Z. 142 , 317 (1923)
- (9) O. Warburg Klin.Wschrft. 2. Nr. 17 (1923)
 S. Minami
- (10) O. Warburg "Über den Stoffwechsel d.Tumoren"
 Berlin 1926
- (11) O. Warburg Lit.-Stelle (10), S. 248 ff
 F. Wind
 E. Negelein
- (12) O. Warburg Sonderbände z. Strahlentherapie
 Krebsforsch. u. Krebsbek. Bd. 34
 S. 3 ff (1956)
- (13) P. Rous J. exp. Med. 73 , 365 (1941)
 I. G. Kidd

- (14) P. Rusch Arch. of Pathol. 42 , 445 (1946)
B. E. Kline
- (15) O. Warburg " Ideen zur Fermentchemie der Tumoren", in Abhandlung d. dtsh. Akademie d. Wissensch. Berlin 1947, S. 2
- (16) E. Boyland Biochem. J. 33, 618 (1939)
- (17) H. Holzer Biochem. Z. 328, 163 (1956)
- (18) D. Burk Science 124 , 270 (1956)
L. Schade
- (19) G. Domagk Therapeut. Berichte Nr. 5, S. 246, (1960)
- (20) H. Lettré Mitt. dtsh. pharmaz. Gesellsch. Nordbaden, Heft 8 a, S. 130 (1959)
- (21) Rueckert cit.: Lit.-Stelle (20) S. 130
Müller
- (22) O. Warburg Lit.-Stelle (10) S. 68 ff
- (23) O. Warburg Lit.-Stelle (12) S. 7
- (24) C. Bernard "Lecons sur le Diabète"
Paris 1877, S. 328
cit.: Lit.-Stelle (10) S. 194
- (25) O. Warburg Naturforschung und Medizin i. Deutschland 1939 - 1946 Bd. 41, S. 49; Weinheim 1953
- (26) O. Meyerhof Biochem. Z. 283, 83 (1936)
W. Kiessling
- (27) K. Myrbäck "Enzymatische Katalyse"
Berlin 1953, S. 147

- (28) F. Lipmann Advances in Enzymolog.
 1, 99 (1941)
 6, 231(1946)
- (29) H. M. Kalckar J. biol. Chemistry
 143, 299 (1942)
 148, 127 (1943)
 153, 355 (1944)
- (30) A. Harden J. Physiol. 32, (1905)
 W. J. Young cit.: Sumner-Myrbäck,
 "The Enzymes" Vol.II, Part 1
 New York 1951, S. 688
- (31) H. v. Euler Hoppe-Seyler's Z. physiol.
 Chem. 242 , 225 (1936)
 245 , 217 (1937)
 246 , 64 (1937)
 247 , 127 (1937)
- (32) O. Warburg Biochem. Z. 282, 157 (1935)
 W. Christian 287, 291 (1936)
- (33) C. Neuberg Biochem. Z. 36, 70 (1911)
 L. Karczag
- (34) O. Meyerhof Biochem. Z. 183, 176 (1927)
- (35) O. Meyerhof Naturwissenschaften 23 , 850
 (1935)
- (36) Th. Bersin "Kurzes Lehrbuch d.Enzymologie"
 Leipzig 1954, S. 237
- (37) K. Lohmann Biochem. Z. 262, 137 (1933)
- (38) O. Meyerhof Biochem. Z. 286, 319 (1936)
 K. Lohmann 273, 73 (1934)

- (51) C. Rohmann G. Helmstaedter, Dissertation
G. Helmstaedter Frankfurt am Main 1954
- (52) C. Rohmann D. Meisel, Dissertation
D. Meisel Frankfurt am Main 1959
Archiv d. Pharmazie, 294/66.Bd.,
Heft 9, 538-549 (1961)
- (53) C. Rohmann C. Führer Dissertation,
C. Führer Frankfurt am Main 1958
Archiv d. Pharmazie, 294/66.Bd.,
Heft 1, 28 - 36 (1961)
- (54) C. Rohmann K.H. Müller, Dissertation,
K. H. Müller Frankfurt am Main 1958.
- (55) C. Rohmann G. Dahlhausen, Dissertation,
G. Dahlhausen Frankfurt am Main 1959
Archiv d. Pharmazie, Bd. 295, Heft
4, 292 - 304 (1962)
- (56) O. Warburg Sonderbände Strahlentherapie
Krebsforsch. u. Krebsbek.
Bd. 34 S. 4
- (57) H. Arnold Naturwissenschaften 45, 64 (1958)
F. Bourseaux
N. Brock
- (58) H. Arnold Angew. Chem. 70, 539 (1958)
F. Bourseaux
- (59) N. Brock Z. f. Krebsforsch. 62, 9 (1957)
- (60) H. Arnold Arzneimittelforsch. 7, 735 (1957)
N. Brock
H. S. Nohorst
- (61) H. Druckrey Dtsch. med. Wschrft. 77, 1534
(1952)

- (76) L. Heilmeyer Klin. Wschrft. 30, 537 (1952)
I. Heilmeyer
- (77) H. Schulten Med. Klinik 50, 1631 (1955)
W. Pribilla
- (78) O. Warburg Lit.-Stelle (10)
- (79) O. Warburg "Ideen zur Fermentchemie d.
Tumoren" in Abhandl. d. dtsh.
Akadem. d. Wissensch., Berlin
1947, S. 2
- (80) O. Warburg "Wasserstoffübertragende Fermente",
Sänger, Berlin 1948
- (81) H. J. Wolf Dtsch. med. Wschrft. 81, 801
N. Gerlich (1956)
- (82) H. J. Wolf Vortr. 6. Österr. Krebstagg.
N. Gerlich Wien, Mai 1957
- (83) K. Boshamer Hamb. Ärztebl. 10, 252 (1956)
- (84) E. Bauer Krebsarzt, Wien 12, 129 (1957)
- (85) F. Hesse Krebsarzt, Wien 12, 150 (1957)
G. Kaupen
- (86) S. Petersen Angew. Chem. 67, 217 (1955)
W. Gauss
E. Urbschat
- (87) L. Busch Sonderdruck "Therapeut. Berichte"
29, 245 (1957) S. 1
- (88) F. E. Lehmann Helvet. physiol. pharm. Acta
4, 11 (1946)
- (89) R. Meier Experientia, Basel 1, 57 (1945)
M. Allgöwer

- (90) R. Meier Experientia, Basel 3, 358 (1947)
N. Schar
- (91) G. M. Badger Proc. Roy. Soc. 130, 255 (1942)
- (92) A. K. Powell Brit. J. Cancer 5, 264 (1951)
- (93) H. Holzer Lit.-Stelle (75)
- (94) J. Pütter Therapeut. Berichte (Bayer)
5, 255 (1960) cit.: S. 258
- (95) O. Warburg Naturwissenschaften 41, 485 (1954)
- (96) J. Pütter Lit.-Stelle (94) S. 259
- (97) v. Kress Med. Klinik d.Fr. Universität
Gerhartz Berlin. Persönl. Mitteilung an
Casella-Farbwerke v. 6.1.1958
- (98) W. Remmele Ztschr. f. Krebsforschung
W. Rick 61, 449 (1957)
- (99) H. Bernhardt Med. Klin. 83, 1743 (1930)
- (100) H. Bernhardt Berlin. med. Z. 773 (1950)
- (101) K. Vogel Med. Klin. 35, 1440 (1956)
- (102) L. Heilmeyer "Einteilung d. wichtigsten Cyto-
statica". Tagg. d. Hess. Ges. zur
Erforsch. u. Bekämpfung d. Krebs-
krankheit, Marburg 1951
cit.: nach G. Domagk "Die exper.
Geschwulstforschung", in Handbuch
d. allgem. Pathol. Bd.VI Teil 3,
S. 242 (1956)
- (103) M. Yabusoe Biochem. Z. 168, 227 (1926)
in Lit.-Stelle (10) S. 234 ff

- (104) J. H. Quastel Biochem. J. 25, 629 (1931)
V. R. Wheatley cit.: W. Sexton, "Chemische Kon-
stitution und biologische Wirkung"
1958, S. 204
- (105) K. A. Elliott Biochem. J. 29, 2396 (1935)
Z. Baker cit.: W. Sexton, "Chemische Kon-
stitution und biologische Wirkung"
1958, S. 204
- (106) R. Albert u. Brit. J. exp. Pathol. 26, 160
Mitarbeiter (1946); cit.: W. Sexton, S. 205
- (107) C. Rohmann Lit.-Stelle (55)
G. Dahlhausen
- (108) A. Fischer u. J. Bacteriolog. 48, 439 (1944)
Mitarbeiter
- (109) H. O. Oswald Ztschrift. f. Krebsforschung
60, 514 (1955)
- (110) C. Rohmann Lit.-Stelle (55)
G. Dahlhausen
- (111) C. Rohmann Lit.-Stelle (51)
G. Helmstaedter
- (112) C. Rohmann Lit.-Stelle (52)
D. Meisel
- (113) W. W. Umbreit "Manometric Techniques"
R. H. Burris Minneapolis 1957, S. 149
J. F. Stauffer
- (114) H. M. Rauen "Biochem.Taschenbuch" Berlin 1956
S. 1182

- (115) O. Warburg Biochem.Z. 152, 51 (1924)
 in Lit.-Stelle (10) S. 102 ff
- (116) F. R. Meyer Angew. Chemie 52, 637 (1939)
 G. Ronge
- (117) W. W. Umbreit Lit.-Stelle (113) S. 4
 R. H. Burris
 J. F. Stauffer
- (118) Landolt-Börnstein "Physikal.-chem. Tabellen"
 5. Aufl., Bd. I (1923) S.762 ff
- (119) O. Suschny Exp. Cell. Res. 14, 316 (1958)
 G. Kellner
 E. Broda
 B. Figdor
 W. Rücker
- (120) D. Matzelt Biochem. Z. 330, 245 (1958)
 J. Homann
- (121) Y. Becker Proc. Soc. exp. Biol. Medic.
 H. Bernkopf 97, 77 (1958)
- (122) O. Warburg Vortr. 100. Tagung d. Ges. Dtsch.
 Naturforscher u. Ärzte, Wiesbaden
 1958
- (123) O. Warburg Naturwissenschaften, Heft 2 (1959)
 K. Gawehn
 A. W. Geissler
 W. Schröder
 H. S. Gewitz
 W. Völker
- (124) O. Warburg Z. f. Naturforschung, 12 b 393
 (1957)

Lebenslauf

Am 21. Juni 1929 wurde ich, Wolfgang Lenz, als Sohn des Botanikers Dr. phil. Wilhelm Lenz und seiner Ehefrau Else, geb. Orlemann, in Darmstadt geboren. Nach vierjähriger Volksschulzeit besuchte ich von April 1939 an das " Alte Realgymnasium" in Darmstadt und legte dort im Juni 1948 die Reifeprüfung ab. Nach zweijähriger Praktikantenzeit in der Nordend-Apotheke in Darmstadt bestand ich im Frühjahr 1952 die pharmazeutische Vorprüfung. Mit dem Sommersemester 1953 begann ich das Studium der Pharmazie an der Johann Wolfgang Goethe-Universität in Frankfurt am Main. Nach bestandener pharmazeutischer Staatsprüfung im Wintersemester 1955/56 war ich ein halbes Jahr in der Apothekenpraxis tätig. Im Frühjahr 1957 erhielt ich die Approbation als Apotheker. Im Wintersemester 1956/57 setzte ich meine naturwissenschaftlichen Studien fort. Nach einer vertieften organisch-chemischen Ausbildung am Pharmazeutischen Institut begann ich unter der Leitung seines Direktors, Herrn Professor Dr. C. Rohmann, mit der Anfertigung meiner Dissertation.

